



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

La importancia de la variación genética para la conservación
de venado bura (*Odocoileus hemionus*) en México.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

MARÍA AZUCENA BAZALDÚA LAZO



DIRECTOR DE TESIS:
DR. JAIME GASCA PINEDA

Ciudad Universitaria, Cd. Mx., 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Hoja de datos del jurado

1.- Datos de la alumna

Bazaldúa

Lazo

María Azucena

56 83 79 92

Universidad Nacional Autónoma de

México

Facultad de Ciencias

Biología

308013351

2.- Datos del tutor

Dr.

Jaime

Gasca

Pineda

3.- Datos del sinodal 1

Dr.

Luis Enrique

Eguiarte

Fruns

4.- Datos del sinodal 2

Dra.

Blanca Estela

Hernández

Baños

5.- Datos del sinodal 3

Dra.

Ella Gloria

Vázquez

Domínguez

6.- Datos del sinodal 4

Dr.

Erick Alejandro

García

Trejo

7.- Datos del trabajo escrito

La importancia de la variación genética
para la conservación de venado bura
(*Odocoileus hemionus*) en México.

70 pp

2016

***La presente investigación fue realizada en el Laboratorio de Evolución
Molecular y Experimental del Instituto de Ecología de la Universidad
Nacional Autónoma de México.***

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por ser parte de mi formación académica y ser la máxima y mejor casa de estudios que me aceptó en ella.

A la Facultad de Ciencias por abrirme las puertas y permitir estudiar la carrera de Biología, por formarme y desarrollarme en mis estudios.

Al Dr. Jaime Gasca Pineda por ser un gran tutor, profesor y amigo y brindarme siempre su apoyo incondicional en la realización de esta investigación, por tenerme paciencia, aclararme y ayudarme siempre en mis dudas.

Al Dr. Luis Eguiarte Fruns y a la Dra. Valeria Souza por abrirme las puertas y permitirme desarrollar mi investigación en el laboratorio de Evolución Molecular y Experimental.

Al Laboratorio de Evolución Molecular y Experimental por ser un lugar tranquilo en el cual pude realizar mi investigación.

A las técnicas Dra. Erika Aguirre Planter y Dra. Laura Espinosa Asuar por su apoyo técnico y brindarme los reactivos necesarios. A la señora Silvia Barrientos por ser siempre atenta y ayudarme en lo necesario.

A la Dra. Blanca Hernández Baños por aceptarme en el taller, y permitirme realizar el servicio social con ella.

A todos los sinodales, por todas las correcciones y comentarios que hicieron que este trabajo fuera mejor.

A la Dirección General de Vida Silvestre (DGVS) de la SEMARNAT por brindar y facilitar las muestras de pelo para hacer posible la realización de este estudio.

GRACIAS

Con cariño, amor y aprecio:

A Dios, a la Virgen y a mi abuela (donde quiera que esté) por cuidar siempre de mí.

A mi madre por ser mi apoyo incondicional en todas las etapas de mi vida, por quererme, confiar y ayudarme a seguir siempre adelante, y no darme nunca por vencida. Te amo y quiero mucho mamá.

A mi padre por quererme y brindarme su apoyo.

A mis hermanos Roberto y Cristóbal por quererme, confiar y apoyarme siempre en todos los momentos y etapas de mi vida. Los amo y quiero mucho.

A mis amigos Carlos, Pepe, Oswaldo y Laura, por apoyarme y estar ahí siempre que los necesitaba.

A todas aquellas personas y amigos que estuvieron siempre conmigo.

Los quiero mucho.

RESUMEN

El venado bura (*Odocoileus hemionus*) es un cérvido cuya distribución abarca porciones del noreste de México, la Península de Baja California hasta el norte de Estados Unidos de América y Canadá. Es una especie de importancia ecológica, económica, cultural, social y cinegética para México. El objetivo de este trabajo fue determinar la variación genética de las poblaciones de venado bura en México mediante el uso de cuatro distintos microsatélites con fines de conservación.

Se analizaron 108 individuos mostrando una alta variación genética dentro de los estados de Baja California Sur ($H_E=0.712$), Chihuahua ($H_E=0.733$) y Sonora ($H_E=0.786$), siendo Baja California Sur y Sonora los estados que presentan los niveles más altos de variación genética, la cual está influenciada tanto por la endogamia ($F_{IS}=0.221$) como deriva génica ($F_{ST}=0.064$). Se encontraron tres grupos genéticamente diferenciados que se distribuyen dentro de los estados de Baja California Sur, Chihuahua y Sonora.

Se recomienda permitir la conectividad de las localidades (UMA) dentro de los Estados, para el intercambio de individuos de su respectivo grupo genético. Incrementar el tamaño poblacional para los estados con menor número de individuos. Se recomienda asimismo llevar a cabo análisis usando un mayor número de marcadores moleculares, y evitar la reintroducción de organismos provenientes de otros Estados u otras poblaciones no cercanas.

ABSTRACT

The mule deer (*Odocoileus hemionus*) is a mammal with a Nearctic distribution, it is important in several aspects, likes: economic, cultural, social and biological studies. In Mexico has an importance in hunting activities. The main objective of this study was to evaluate the genetic variation of the populations of mule deer in Mexico, by using four molecular markers as a helping tool in order to carry out a successful management plan for conservation.

We found high levels of genetic variation for the populations distributed on the States of Baja California Sur ($H_E=0.712$), Chihuahua ($H_E=0.733$) y Sonora ($H_E=0.786$), which can be related to the joint action of inbreeding depression ($F_{IS}=0.221$) and genetic drift ($F_{ST}=0.064$). In addition, we found significant structure levels within the populations from Baja California Sur, Sonora and Chihuahua. Furthermore, the analyses showed individuals from Baja California Sur and Sonora with the highest genetic diversity.

Our results suggest that in order to correctly preserve diversity in mule deer, it is necessary to allow connectivity between populations of the same lineage, to increase the population size of the low individual populations and avoid reintroduction of organisms from other populations, using as many molecular markers as needed.

INDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	11
1.1. El venado bura.....	11
1.1.1. Descripción de la especie.....	11
1.1.2. Ecología e historia natural.....	12
1.1.3. Distribución geográfica.....	14
1.1.4. Importancia ecológica, cinegética, económica y cultural.....	15
1.1.5. Estado de conservación.....	16
1.2. Unidades de manejo y aprovechamiento (UMAs).....	17
1.3. La genética de poblaciones y la conservación.....	18
1.3.1. Genética de poblaciones.....	19
1.3.1.1. Variación genética.....	19
1.3.2. Fuerzas evolutivas que afectan la variación genética.....	20
1.3.3. Marcadores moleculares.....	22
1.3.3.1. Microsatélites.....	23
2. ANTECEDENTES.....	25
3. JUSTIFICACIÓN.....	27

4. OBJETIVOS.....	28
4.1. General.....	28
4.2. Particulares.....	28
5. MÉTODO.....	29
5.1. Área de estudio.....	29
5.2. Muestreo.....	29
5.3. Extracción.....	30
5.4. Amplificación y secuenciación.....	31
5.5. Análisis estadísticos.....	32
6. RESULTADOS.....	35
7. DISCUSIÓN.....	45
7.1 Variación genética.....	45
7.2 Estructura y diferenciación genética.....	48
7.3 Desequilibrio de ligamiento.....	49
7.4 Patrones de endogamia.....	49
7.5 Manejo y conservación.....	50

8. CONCLUSIONES	52
9. SUGERENCIAS PARA MANEJO.....	53
10. PERSPECTIVAS.....	54
11. REFERENCIAS.....	55
12. APÉNDICES.....	60
12.1. Anexo 1.....	61
12.2. Anexo 2.....	62
12.3. Anexo 3.....	63
12.4. Anexo 4.....	64
12.5. Anexo 5.....	65
12.6. Anexo 6.....	68
12.7. Anexo 7.....	70

1. INTRODUCCIÓN

1.1. El venado bura (*Odocoileus hemionus*)

1.1.1 Descripción de la especie

El venado bura o *mule deer* en inglés (*O. hemionus*) es una especie de mediano tamaño del Orden Artiodactyla, Familia Cervidae. Su nombre común se debe a sus largas orejas, supuestamente parecidas a las de un burro o mula. A diferencia de su especie hermana, el venado cola blanca (*O. virginianus*), que tiene la punta de la cola blanca, sus astas se ramifican y se inclinan hacia atrás; el venado bura tiene orejas prominentes, su cola es negra y sus astas se bifurcan dicotómicamente y se amplían hacia delante (Figura 1) (Anderson y Wallmo, 1984).

Cada año a partir de mediados de enero hasta mediados de abril (particularmente en climas fríos), las cornamentas del venado bura presentan crecimiento. En los machos el peso va desde los 45 a 150 kg y en las hembras de 43 a 75 kg. Esto muestra, junto con las astas en machos la existencia de dimorfismo sexual (Figura 1) (Anderson y Wallmo, 1984).

Su pelaje varía de acuerdo a las temporadas, durante el invierno la parte posterior y lateral del cuerpo varía de gris al marrón oscuro o incluso a negro en la zona dorsal media, mientras que para el verano cambia a un marrón rojizo. Presentan un parche trasero que puede ser de color blanco o amarillo, y un parche en la garganta de color blanco (Anderson y Wallmo, 1984).



Figura 1. Arriba: Izq. Dimorfismo sexual presente en los venados bura. Der. Machos adultos de venado bura. Imágenes tomadas de <http://www.ranchosantiagosonora.com>. Abajo: Astas bifurcadas y amplias en machos adultos de venado bura. Imagen tomada de <http://camoumuledeer.com>.

La cola de la mayoría de los venados bura terminan en un penacho de pelo negro o en menor proporción en penachos de pelo blanco. En algunos individuos, una línea dorsal oscura se extiende desde la parte trasera, por la parte superior de la cola, a la punta de la cola negra (Weber y Galindo, 2005).

1.1.2 Ecología e historia natural.

El venado bura se encuentra en hábitats abiertos con poca vegetación y en zonas húmedas, entre los que se encuentran los matorrales xerófilos con gobernadora (*Larrea tridentata*), maguey (*Agave* spp), nopales (*Opuntia* spp), yucas (*Yucca* spp), ocotillo (*Fouquieria splendens*), pastizales de toboso (*Hilaria mutica*) y navajita (*Bouteloua gracilis*, *B. eriopoda*, *B. curtipendula*) y los “mogotes” de mezquite (*Prosopis* spp) (Weber y Galindo, 2005).



Figura 2. Hábitat de venado bura en matorrales xerófilos (izq.) y pastizales (der.). Imágenes tomadas por Teri Virbickis.

Las subespecies de Baja California (*O. h. peninsulae* y *O. h. fulginatus*) ocupan áreas con matorral xerófilo, bosques de encino y bosques de pino. En la Isla Tiburón, Sonora, *O. h. sheldoni* ocupa matorral xerófilo que incluye árboles y arbustos bajos. En la Isla Cedros donde habita *O. h. cerrocensis*, predomina el matorral denso y chaparral (Weber y Galindo, 2005).

Su dieta varía espacio-temporalmente y está constituida principalmente por hojas tiernas, yemas y frutos de árboles y arbustos, junto con gran diversidad de hierbas y pasto verde. En México, una buena proporción de su alimentación está basada en encinos (*Quercus* spp), guasapol (*Ceanothus* spp), mezquite (*Prosopis* spp), palo fierro (*Olneya tesota*, *Dysodia* spp), nopales (*Opuntia* spp), sotol (*Dasyllirion* spp), yucas (*Yucca* spp) y gran variedad de pastos (*Mullenberghia* y *Bouteloa*, entre otros) (Weber y Galindo, 2005).

Los principales depredadores de los venados bura incluyen a pumas (*Puma concolor*), coyotes (*Canis latrans*), lince (*Lynx rufus*), águilas reales (*Aquila chrysaetos*), perros ferales y domésticos (*Canis lupus familiaris*), y osos negros (*Ursus americanus*) (Anderson y Wallmo, 1984).

El venado bura tiene un sistema social que consiste en clanes femeninos relacionados por descendencia materna (Anderson y Wallmo, 1984), es decir, son animales gregarios donde el sistema de apareamiento es poligámico. Los machos permanecen con una hembra hasta el apareamiento, posteriormente se mueven grandes distancias para encontrar a otra hembra y reproducirse (Weber y Galindo, 2005).

1.1.3 Distribución geográfica.

Se caracterizan por tener una distribución histórica que abarcaba desde el sur de Alaska, el centro occidente de Canadá hasta el norte de México. Esta distribución comprendía la península de Baja California y los desiertos sonorenses, chihuahuenses y las mesetas del centro de México hasta Zacatecas, San Luis Potosí y suroeste de Tamaulipas (Figura 3) (SEMARNAT, 2010; Weber y Galindo, 2005).

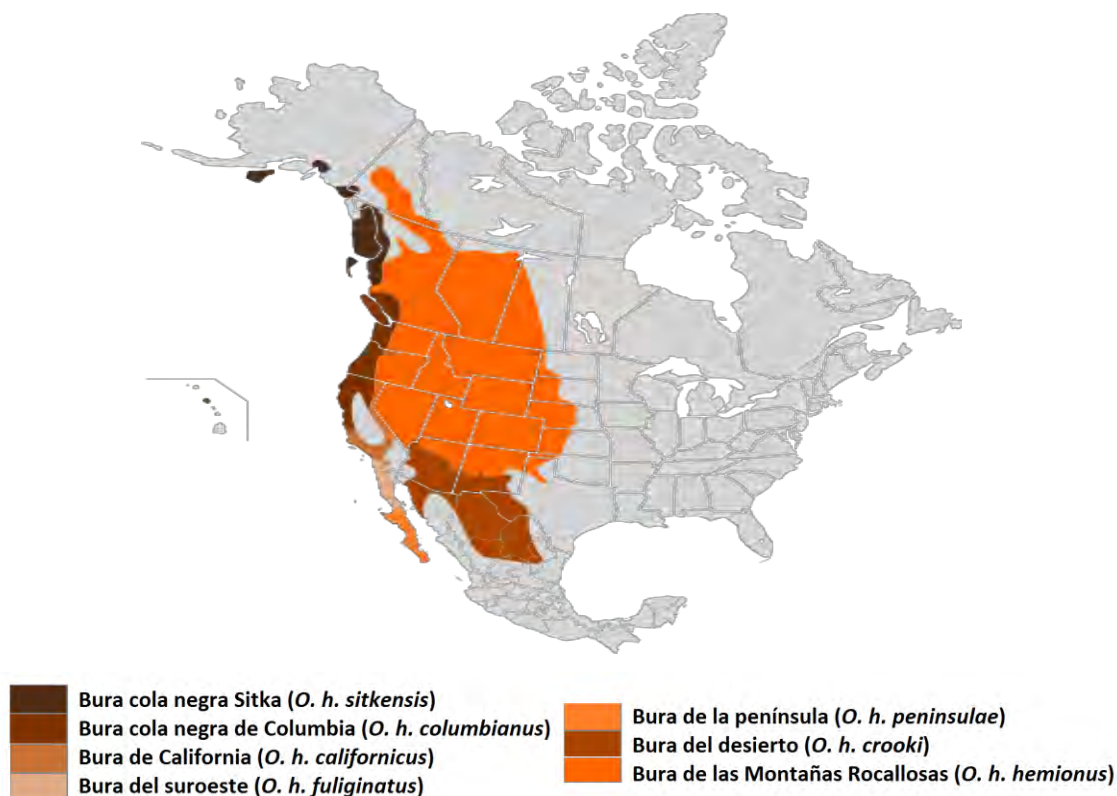


Figura 3. Distribución de venado bura en el norte de América. Modificado de Feldhamer *et al.*, 2003.

Actualmente gran parte de su distribución histórica y diversas poblaciones han desaparecido, encontrándose en parches geográficos aislados en varios estados del norte del país con registros en los estados de Baja California y Baja California Sur, Sonora, Chihuahua, Coahuila, Durango, Zacatecas, Nuevo León, Tamaulipas e incluso en el norte de San Luis Potosí (Figura 4) (Weber y Galindo, 2005; SEMARNAT, 2010).



Figura 4. Distribución en México de venado bura. Mapa tomado y modificado de Ceballos *et al.*, 2005.

1.1.4 Importancia cultural, económica, ecológica, cinegética.

Desde el inicio de la historia diversos animales, incluyendo a los venados han formado parte de la cosmogonía y de la herencia cultural y social. En la prehistoria se plasmaban pinturas rupestres que representaban grupos de ciervos corriendo o siendo cazados por humanos con lanzas o arcos, como si fueran representación de santuarios mágicos o religiosos (Mandujano, 2010).



Figura 5. Representación de pintura rupestre de la relación entre venado y humanos en la prehistoria (Mandujano, 2010).

En muchos pueblos indígenas nativos de México, como los huicholes, mazahuas, mexicas, kikapús, tarahumaras, tepehuanos, yaquis, coras y seris, los venados han sido representados como un animal totémico o un dios-héroe, motivo de reverencia, fiestas, bailes, leyendas y tradiciones religiosas (Mandujano, 2010).

El venado también ha tenido un papel importante dentro de la economía de los pueblos indígenas y mestizos debido al consumo de su carne por habitantes locales y pueblos indígenas y al uso de pieles para elaborar prendas de vestir y artesanías. No obstante, han sido motivo de la caza furtiva y de subsistencia, además de la cacería deportiva, trayendo consigo importantes beneficios económicos, además de la importancia cinegética (Mandujano, 2010; SEMARNAT, 2010).

Biológica y ecológicamente, los cérvidos son especies clave dentro de la naturaleza al formar parte de una red alimenticia como herbívoro dispersor de semillas de distintas plantas de las que se alimentan, incluso como presa de carnívoros depredadores. Al morir, sus restos son consumidos por animales carroñeros, como zopilotes (*Coragyps atratus*), cuervos (*Corvus corax*), zorros (*Vulpes vulpes*) y coyotes (*Canis latrans*). Los excrementos de los venados son desintegrados, utilizados y reincorporados al suelo por escarabajos e insectos. Las astas mudadas y los huesos son usados por roedores como fuente de calcio (Mandujano, 2010).

1.1.5 Estado de conservación

Dentro de la distribución del venado bura en México se encuentran las subespecies *O. h. eremicus* dentro del desierto Chihuahuense; *O. h. cerrocensis* en Isla Cedros; *O. h. sheldoni* en Isla Tiburón; al suroeste de México se encuentra *O. h. fulginatus* y en la Península de California *O. h. peninsulae*.

De acuerdo a la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN, por sus siglas en inglés), la especie se encuentra dentro de la Lista Roja de las

especies en Peligro, bajo el estatus de Preocupación menor (Red List of Threatened Species: Status: Least Concern (LC)). A nivel subespecífico *O. h. cerrocensis*, *O. h. fulginatus*, *O. h. penninsulae*, y *O. h. sheldoni* se encuentran en la lista de especies en peligro de extinción en Estados Unidos. En México solo *O. h. cerrocensis*, *O. h. peninsulae*, y *O. h. sheldoni* se encuentran protegidas por la ley (Sánchez Rojas y Gallina Tessaro, 2008; Weber y Galindo, 2006; Wilson y Reeder, 2005).

Las poblaciones de la subespecie *O. h. eremicus* se localizan en parches geográficos aislados, encontrándose en peligro de desaparición en Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas, Zacatecas y San Luis Potosí. En la Isla Cedros, Baja California, *O. h. cerrocensis* y en Isla Tiburón, Sonora, *O. h. sheldoni* son endémicas y están listadas en la NOM-059-SEMARNAT-2010 en la categoría de amenazadas (A), lo que indica su condición precaria. *O. h. peninsulae* y *O. h. fulginatus* ocupan la península de Baja California; al norte y al sur respectivamente (SEMARNAT, 2010; Weber y Galindo, 2005).

1.2 Unidades de manejo y aprovechamiento (UMAs)

Las llamadas en México “Unidades para la Conservación, Manejo y Aprovechamiento Sustentable de la Vida Silvestre” (UMAs) buscan promover esquemas de producción compatibles con el cuidado del medio ambiente, con el fin de preservar la biodiversidad y generar oportunidades de diversificación y aprovechamiento, además de fines cinegéticos (Gallina Tessaro, 2008).

Las UMAs se clasifican en dos categorías: las extensivas y las intensivas (Mandujano, 2011). Las UMAs intensivas, consisten en el manejo de poblaciones o individuos de especies en cautiverio (criaderos o viveros) con el objetivo principal de comercialización de especies, seguido de la exhibición, conservación por medio de la reproducción para repoblar o rehabilitar zonas con nuevos organismos y la investigación. Las UMAs extensivas o de vida libre, son una forma básica de manejo para la conservación y producción en el hábitat y desarrollo poblacional en vida libre (Gallina *et al.*, 2009).

Teóricamente la creación de una UMA trae consigo beneficios económicos, ambientales y sociales gracias a la producción de piel y carne para el comercio, así como el turismo en las zonas donde se encuentra la fauna protegida (SEMARNAT-CONAFOR, 2009).

Dentro de los beneficios sociales se suponen que crean condiciones para trabajo comunitario, lo cual genera fuente de empleo, promoviendo la convivencia y desarrollo integral de la comunidad, generando apoyos y recursos para satisfacer necesidades básicas de la población. Asimismo se considera que fortalecen el desarrollo económico de zonas rurales, por medio de la aprobación de todas aquellas actividades relacionadas con la vida silvestre bajo un plan de manejo, y que promueve la autogestión que permite la toma de decisiones de las comunidades para desarrollar proyectos productivos y de aprovechamiento (SEMARNAT-CONAFOR, 2009).

Por último, dentro de los beneficios ambientales, se originan proyectos de producción amigables con el cuidado del ambiente. De igual manera hay aprovechamiento con actividades complementarias como la agricultura y ganadería, para crear un manejo del hábitat de las especies promoviendo su conservación y aprovechamiento sustentable, evitando así su alteración (SEMARNAT-CONAFOR, 2009).

1.3 La genética de poblaciones y la conservación

La genética de la conservación engloba el uso de la teoría y las técnicas de la genética para reducir el riesgo de extinción en especies amenazadas. Se deriva de la genética de poblaciones y de la teoría de la genética cuantitativa.

El estudio de la viabilidad en poblaciones de plantas y animales silvestres implica un intento para prevenir pérdidas futuras de especies y poblaciones a causa de las actividades humanas. La viabilidad de una población significa mantener las poblaciones de tamaño suficiente en un hábitat para la supervivencia a largo plazo de una especie, lo que implica mantener la capacidad de las especies para el cambio evolutivo. La genética para la conservación usa la teoría genética y sus técnicas para

reducir el riesgo de extinción en especies amenazadas (SEMARNAT, 2011; Frankham *et al.*, 2010).

Uno de los principales objetivos de la genética de la conservación es ayudar a minimizar las extinciones evitando los problemas relacionados con tamaños efectivos pequeños, como el efecto deletéreo de la endogamia, la pérdida de diversidad y la habilidad para evolucionar en respuesta a los cambios ambientales, así como efectos deletéreos que ocurren por la cruce entre individuos muy distintos (Rocha y Gasca, 2007).

1.3.1 Genética de poblaciones

La genética de poblaciones es una rama de investigación de la genética que se encarga de estudiar cómo se aplican las leyes de Mendel y otros principios genéticos a las poblaciones naturales incluyendo el estudio de la variación genética (alélica y nucleotídica) dentro del ADN, lo que proporciona la descripción de la variación genética de los organismos (Eguiarte, 1999; Hedrick, 2010; Hernández *et al.*, 2007).

El reto del estudio de la genética de poblaciones y las relaciones evolutivas, está en determinar las contribuciones relativas de los procesos que generan variación genética y las fuerzas que determinan los cambios evolutivos (Silva y Vinuesa, 2007; Eguiarte, 1999).

1.3.1.1 Variación genética

En sentido amplio, la diversidad genética es el componente más básico de la biodiversidad y se define como las variaciones heredables que ocurren en todos los organismos, entre los individuos de una población y entre las poblaciones dentro de una especie. El origen de la variabilidad a este nivel se encuentra en la mutación y recombinación que origina nuevas variantes genéticas o nuevas combinaciones de estas variantes, es decir, diversidad en la composición genética de individuos, poblaciones y especies (Eguiarte, 1999; Martínez, 2002).

Los niveles de variación genética son modificados por los procesos evolutivos. La variabilidad genética juega un papel fundamental en los procesos evolutivos, ya que es una medida de la tendencia de los genotipos de una población a diferenciarse y ser parte de la evolución (Eguiarte y Piñero, 1990).

La variación genética se manifiesta por diferencia en distintos caracteres morfológicos, en proteínas, enzimas y secuencias de ADN en casi todos los organismos, es decir, los genes se presentan en un número de alelos alternativos, haciendo que los individuos varíen en sus genotipos y consecuentemente en sus fenotipos (Frankham *et al.*, 2010; Martínez, 2002).

La variación genética ha sido estudiada en poblaciones naturales durante el último medio siglo, descubriéndose que casi todas las poblaciones tienen niveles relativamente altos de variación (Eguiarte y Piñero, 1990).

Los estimados de variación genética son típicamente descritas usando principalmente el polimorfismo o la tasa de polimorfismo que muestra la proporción de uno o más variantes (alelos o haplotipos) en una población, así como la heterocigosidad promedio, la cual estima la probabilidad de que dos alelos tomados al azar de la población sean diferentes y la diversidad nucleotídica que indica el número promedio de diferencias nucleotídicas por sitio, entre dos secuencias de la población elegidas al azar (Cabrero y Camacho, 2002).

1.3.2 *Fuerzas evolutivas que afectan la variación genética*

Una población panmítica (grupo de individuos de intercambio genético en el que existe apareamiento aleatorio) y grande mantiene estables sus frecuencias alélicas y genotípicas; sin embargo la variación genética se ve afectada por distintos procesos evolutivos que llegan a cambiar esas frecuencias. Dentro de estos procesos se encuentran los “direccionales” y los “dispersivos”; en los primeros hay cambio en las frecuencias en cantidad y dirección en poblaciones de tamaño finito, producto de los efectos de migración, mutación y selección; por el contrario los segundos ocurren en poblaciones pequeñas por efecto de muestreo y los cambios de las frecuencias son

dadas en cantidad, dando lugar a efectos de deriva genética y consanguinidad o endogamia (Cabrero y Camacho, 2002).

Dentro de las fuerzas evolutivas se encuentra la selección natural, el cual es el proceso o mecanismo de la evolución por el cual se generan cambios en la adecuación y reproducción diferencial de diferentes organismos generados en diferentes genotipos, dado que cada genotipo tiene una sobrevivencia particular y una fecundidad particular propia (Eguiarte, 1999). Actúa sobre cualquier sistema en el que exista variación fenotípica responsable de diferentes ventajas selectivas y que sean heredables (Soler, 2002).

Otra fuerza evolutiva es la migración o flujo génico, definida como el número de migrantes (individuos que se desplazan de una zona geográfica u hábitat a otra) que llegan a una población, el cual depende de la tasa de migración y de la frecuencia alélica de los individuos migrantes. Las interacciones entre la selección natural y el flujo génico pueden ser complejas ya que llegan a migrar individuos con genes que se expresan en adaptaciones para otras condiciones ambientales y por tanto disminuir la adecuación promedio (adaptación) de la población (Eguiarte, 1999).

La deriva génica tiene el efecto de causar cambios en las frecuencias alélicas al azar lo que ocasionará que en un futuro se pueda fijar alguno de los alelos (Eguiarte, 1999). Los cuellos de botella, son reducciones drásticas en los tamaños efectivos que influyen los niveles de variación genética. Si las poblaciones permanecen pequeñas por periodos de tiempo largos, el efecto de error de muestreo es acumulativo, generando cambios aleatorios en las frecuencias alélicas, es decir deriva génica (Rocha y Gasca, 2007). Esto se debe a que las poblaciones de organismos constan de un número limitado de individuos (Cabrero y Camacho, 2002).

La endogamia representa el apareamiento no aleatorio, en donde la probabilidad de que un individuo tenga alelos idénticos por descendencia es mayor en comparación a una población panmítica, en donde aumentan los números de homocigos dentro de las poblaciones, ya que la movilidad de los individuos a veces es muy restringida y los apareamientos entre los miembros de una población no se

realizan al azar (Eguiarte, 1999; Moreno Letelier, 2007). La endogamia puede ocurrir en poblaciones grandes como resultado de apareamientos no aleatorios, y se incrementa en poblaciones pequeñas ya que aumenta la probabilidad de existencia de mayor número de apareamientos aleatorios (Cabrero y Camacho, 2002).

Por último, la mutación es multinivel e involucra cambios en uno o varios nucleótidos, parte de genes, número de copias de un gen, parte de uno o muchos cromosomas, o un juego de cromosomas (Hedrick, 2010). Es la fuente principal de la evolución ya que es una fuerza que origina variación genética en las poblaciones, pero poco relevante para cambiar las frecuencias alélicas (Eguiarte, 1999).

1.3.3 Marcadores moleculares

Existen varias definiciones de marcadores moleculares o genéticos, Rieger *et al.* (1982) menciona que son cualquier diferencia fenotípica controlada genéticamente utilizada en el análisis genético; Gale (1994) los define como cualquier medio para identificar cualquier locus específico en un cromosoma, siendo la mejor definición a tomar en cuenta (Pérez de la Vega, 1997).

Los marcadores moleculares son una herramienta necesaria para localizar y aislar genes de interés, estimar e identificar poblaciones con diversidad genética reducida y vulnerable a cambios ambientales, así como la identificación de especies, asignación de individuos a poblaciones y subpoblaciones genéticamente diferenciadas del resto para dirigir esfuerzos conservacionistas hacia ellas. Los diferentes tipos de marcadores se distinguen por su capacidad de detectar polimorfismos en loci únicos o múltiples y son de tipo dominante o codominante (Rentarías Alcántara, 2009; Godoy, 2009; González, 2003).

Del mismo modo, aportan información sobre la historia de vida de la especie, genealogías previas y para conocer grados de parentesco entre individuos que permitan prevenir los riesgos relativos de niveles de consanguinidad altos que puedan llevar a la depresión por endogamia (reducción en la adecuación de los individuos, producto de apareamientos entre parientes) y su posible extinción. En particular

ayudan a detectar la existencia de cuellos de botella en la historia reciente de las poblaciones y estimar tamaños poblacionales efectivos (Godoy, 2009; González, 2003; Moreno Letelier, 2007).

1.3.3.1 Microsatélites (SSRs)

Los microsatélites o secuencias simples repetidas (SSR: *simple sequences repeats*), son marcadores constituidos por repeticiones en tándem (seguidas) de secuencias cortas de ADN de 1 a 6 pares de bases. Presentan herencia mendeliana simple, son codominantes (se pueden diferenciar los individuos homocigos de los heterocigos) y con un número alto de alelos en un mismo locus genético (altamente polimórficos en cuanto a su longitud) (González, 2003; Alcántara, 2007).

Se han encontrado microsatélites tanto en genomas eucariontes como procariontes e incluso en genomas de mitocondrias y cloroplastos, y pueden estar localizados en regiones codificantes y no codificantes del ADN. En general son regiones genéticas adecuadas para usarse como marcadores moleculares a nivel poblacional. Han sido utilizados principalmente para estudios de variación genética intra e interespecífica (Lobo y Morales, 2014; Rentarí Alcántara, 2007).

Son en principio marcadores selectivamente neutros, lo cual los hace tener ventaja sobre otros marcadores genéticos como los AFLPs (polimorfismos de longitud de los fragmentos amplificados), RAPDs (polimorfismos de ADN amplificados al azar), RFLPs (polimorfismos de la longitud de los fragmentos de restricción), ya que son abundantes, polimórficos, específicos de cada locus e incluso el ADN en estado avanzado de degradación es suficiente para ser analizado (González, 2003; Alcántara, 2007).

Los microsatélites al presentar diferentes tipos de alelos y localizarse en distintos genomas de una célula, brindan información a diferentes niveles. Los microsatélites mono y dinucleótidos son los más abundantes teniendo una tasa de mutación mayor, por lo que son apropiados para detectar diferencias entre individuos de una misma población. Por el contrario los microsatélites de tres o más nucleótidos

muestran menor variabilidad permitiendo la determinación de paternidad y el análisis de variación entre poblaciones e incluso entre especies (Lobo y Morales, 2014; Rentarí Alcántara, 2007).

2. ANTECEDENTES

Los estudios relacionados con la genética de poblaciones y la variación genética de venado bura (*Odocoileus hemionus*) en México han sido muy escasos, ya que estos estudios en mayor medida se han centrado en el venado cola blanca (*O. virginianus*), que es una especie con mayor conocimiento acerca de su ecología, distribución e importancia. Al ser el venado bura una especie amenazada, es de sumo interés su conservación, por lo que es necesario llevar a cabo más estudios relacionados con la genética de poblaciones ya que permitiría mantener la variación genética y ayudar a su manejo a las distintas poblaciones de la especie en México.

Con relación al venado cola blanca (*O. virginianus*), Logan López *et al.* (2007), determinaron su variabilidad genética en el noreste mexicano, utilizando la técnica *Base Excision Sequence Scanning* (BESS-T) para analizar región mitocondrial (D-loop) en 106 muestras de ADN de los estados de Coahuila, Nuevo León y Tamaulipas. Encontraron en total 24 haplotipos, de los cuales 17 eran de *O. v. texanus*, tres en *O. v. veraecrucis*, dos en *O. v. carminis* y por ultimo dos en *O. v. miquihuanensis*. El estado de Tamaulipas presentó mayor diversidad genética ($H_E=0.89$) en relación con los estados de Coahuila ($H_E=0.82$) y Nuevo León ($H_E=0.56$).

Hernández Llamas (2014), estudió la variabilidad genética de las subespecies *O. v. miquihuanensis*, *O. v. couesi* y *O. v. mexicanus* en la región Centro-Norte de México usando un fragmento de la Región Control (D-Loop) del ADN mitocondrial, utilizando 67 muestras en total en donde cuatro fueron de *O. v. miquihuanensis*, 43 de *O. v. mexicanus*, y 20 de *O. v. couesi* de Zacatecas, Aguascalientes, San Luis Potosí, Morelos y Puebla. Se obtuvo una alta diferenciación genética entre las subespecies analizadas ($F_{ST}=0.321$, $P<0.05$), diversidad haplotípica ($H_d=0.986$) y nucleotídica ($\pi=0.083$), sugiriendo moderados niveles de variación genética.

Calderón Lobato (2009) analizó la variabilidad y relación genética entre las subespecies *O. v. texanus*, *O. v. carminis*, *O. v. sinaloae*, *O. v. veraecrucis* y *O. v. yucatanensis* con 12 microsatélites nucleares.

Orozco Jiménez (2012) estudió a *O. hemionus* con 94 muestras de los estados de Baja California, Sonora y Chihuahua, utilizando para ello región control y NADH2 (ND2) de la mitocondria. Con esto se obtuvo la existencia de 51 haplotipos y alta diversidad haplotípica ($H_d=0.967$) como nucleotídica ($\pi= 0.017$).

V. Alminas (2013) analizó muestras de *O. hemionus* de la isla Tiburón (n=14), isla Cedros (n=15) y especies de la colección Americana, donde se obtuvieron 583 pb de la región control mitocondrial y 1,028 pb de citocromo B. Se encontró que ambas subespecies insulares están dentro de los linajes del continente, pero se demuestra la reducción significativa de la variación genética.

Estos estudios relacionados con la variación genética de la especie son importantes para mantener la ecología evolutiva de la especie y para su conservación, ya que así se pueden proponer medidas para ayudar a mantener las poblaciones estables, sin que haya disminución en la variación genética y que por el contrario haya un incremento en su variabilidad, sin que las poblaciones se vean afectadas.

Tabla 1. Diversidad y estructura genética del género *Odocoileus* (N=número de individuos; h = número de haplotipos; H_d =diversidad haplotípica; π = diversidad nucleotídica; Heterocigosis esperada (H_E); F_{ST} =diferenciación genética (estructura).

	Sitio	N	h	H_d	π	H_E	F_{ST}	Referencia
<i>Odocoileus virginianus</i>	Noreste de México	105	24	---	---	0.758	---	Logan López (2007)
	Centro Norte de México	67	---	0.986	0.083	---	0.321	Hernández Llamas (2014)
	México	66	58	0.879	0.571-0.882	0.537-0.843	0.178	Calderón Lobato (2009)
<i>Odocoileus hemionus</i>	México	94	51	0.967	0.017	---	---	Orozco Jiménez (2012)
	Península	67	140	0.983	0.011	---	0.806	V. Alminas (2013)

3. JUSTIFICACIÓN

El venado bura es una especie que ha sido poco estudiada en México especialmente su genética de poblaciones y variación genética, por lo que se requiere mayor información para ampliar el conocimiento de la especie con relación a la variación genética. El venado bura, al ser una especie amenazada, y como parte de una estrategia integral de conservación, es crítico observar que tan genéticamente diferentes o semejantes son sus poblaciones en México.

Con esta información se pueden definir acciones y generar un plan de manejo para la conservación, no solo ecológica sino también genética de la especie en su distribución en México.

4. OBJETIVOS

4.1 GENERAL

- Evaluar la variación genética de las poblaciones de venado bura en México usando microsatélites como marcadores moleculares, con fines de conservación.

4.2 PARTICULARES

- Estimar la diversidad genética de venado bura de las localidades de los estados de Sonora, Baja California Sur y Chihuahua.
- Comparar valores de heterocigosis esperada (H_E), F_{IS} entre encierros intensivos y de vida libre para observar sus semejanzas o diferencias.
- Analizar los niveles de estructura genética de las localidades de México.
- Estimar la endogamia y parentesco dentro y entre localidades.

5. MÉTODOS

5.1. Área de estudio

El área de estudio abarca tres poblaciones sujetas a manejo, localizadas dentro de la distribución natural actual del venado bura en los estados de Chihuahua, Sonora y Baja California Sur. Las poblaciones pertenecientes al estado de Baja California Sur se encuentran restringidas al municipio de Comondú. En Sonora se encuentran en los municipios de Carbó, Caborca y Benjamín Hill. Para las poblaciones del estado de Chihuahua dentro del desierto chihuahuense pertenecen al municipio de Coyame (Figura 6, Tabla 2).

5.2 Muestreo

Se analizaron 108 muestras de pelo obtenidas de trofeos cinegéticos provenientes de individuos de venado bura de distintas UMAs o encierros dentro de los estados de Sonora (n=71), Chihuahua (n=25) y Baja California Sur (n=12) (Figura 6, Tabla 2).

La colecta de muestras se realizó a través de la Delegación Federal de la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) de cada estado y fueron donadas por la Dirección General de Vida Silvestre (DGVS) de la SEMARNAT al Laboratorio de Evolución Molecular y Experimental del Instituto de Ecología de la UNAM. Todas las muestras fueron almacenadas a -80°C hasta su extracción.

Tabla 2. Sitios de muestreo y número de muestras utilizadas de la especie *Odocoileus hemionus*.

UMA	N	Ubicación (Estado)	Municipio	Coordenadas geográficas	
Sta. Anita (STA)	5	Chihuahua	Coyame	29° 27' 39.65" N	105° 15' O
Coyame (COY)	20			29° 28' 16.298" N	105° 7' 40.699" O
Rancho el 60 (RAN)	10	Sonora	Carbó	29° 39' 37.829" N	111° 1' 5.160" O
Las Ánimas (ANI)	11		Benjamín Hill	30° 49' 26" N	111° 18' 17.500" O

Baboyagui (BAB)	1		Guaymas	28° 29' 48.109" N	110° 39' 37.091" O
La Candelaria (CAN)	39		Caborca	30° 21' 6.210" N	112° 30' 31.590" O
El Tepeyac (TEP)	7			30° 11' 41.820" N	112° 23' 46" O
La Tortuga (TOR)	3			30° 40' 24.769" N	112° 8' 26.441" O
Los Pumas (PUM)	10		Baja California Sur	Comondú	26° 4' 14.840" N
El Rosario (ROS)	2	25° 12' 2.002" N			111° 6' 33.001" O

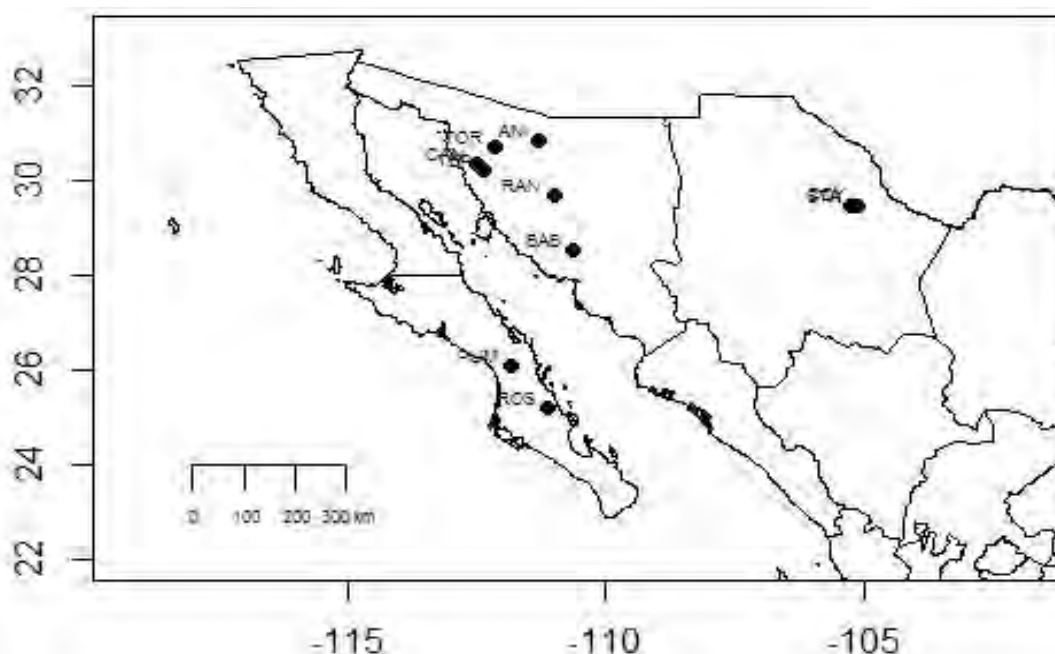


Figura 6. Ubicación de las zonas de muestreo (En Baja California Sur: Los Pumas-PUM, El Rosario-ROS; en Sonora: Baboyagui-BAB, Rancho el 60-RAN, La Candelaria-CAN, La Tortuga-TOR, El Tepeyac-TEP, Las Ánimas-ANI; en Chihuahua: Santa Anita-STA y Coyame-COY).

5.3 Extracción de ADN

La extracción de ADN a partir de la raíz del pelo (folículo piloso) se realizó siguiendo el protocolo de Extracción de Chelex al 5% (Resina BioRad Chelex 100) (ver Anexo 1) realizando la digestión de las proteínas con Proteinasa K. Posteriormente se precipitó el ADN (ver Anexo 2) con la finalidad de evitar la presencia de impurezas e inhibidores que afectaran la amplificación y/o su calidad.

5.4 Amplificación y secuenciación

Se utilizaron seis microsatélites (MAF36, MAF48, BM2113, BM1818, AGLA293, D16S3) para la amplificación de 108 muestras de pelo de los distintos individuos. Las amplificaciones fueron realizadas mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) con un volumen de 15 μ L utilizando distintas condiciones de temperatura de alineación, concentración de Cloruro de Magnesio (ver Anexo 3) y distintos programas del termociclador para cada uno de los microsatélites para llevar a cabo la reacción con un total de 35 ciclos (ver Anexo 4).

El resultado de la amplificación de PCR se verificó mediante la electroforesis en geles de agarosa al 2% con un Buffer TAE 0.5x teñidos con bromuro de etidio (10 μ L/100 mL de TAE), con un ladder como indicador de peso molecular (*Nucleic Acid Markers*, 100pb ADN Ladder, Invitrogen), durante 20 minutos a 100V. Posteriormente el producto de PCR se visualizó con luz UV (ultravioleta) y se fotografió el resultado con una cámara Kodak (EDAS 240) (Figura 7).

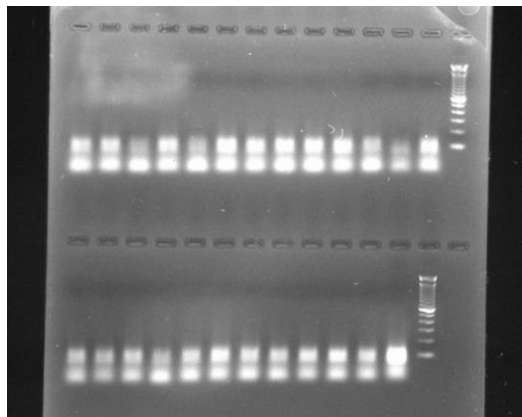


Figura 7. Patrones del microsatélite MAF36 de ADN en venado bura en gel de agarosa al 2%.

Las amplificaciones se secuenciaron y se observaron con el programa Peakscanner Software v1.0 de Applied Biosystems para la identificación de los distintos tamaños alélicos de cada microsatélite para cada individuo (Figura 8).

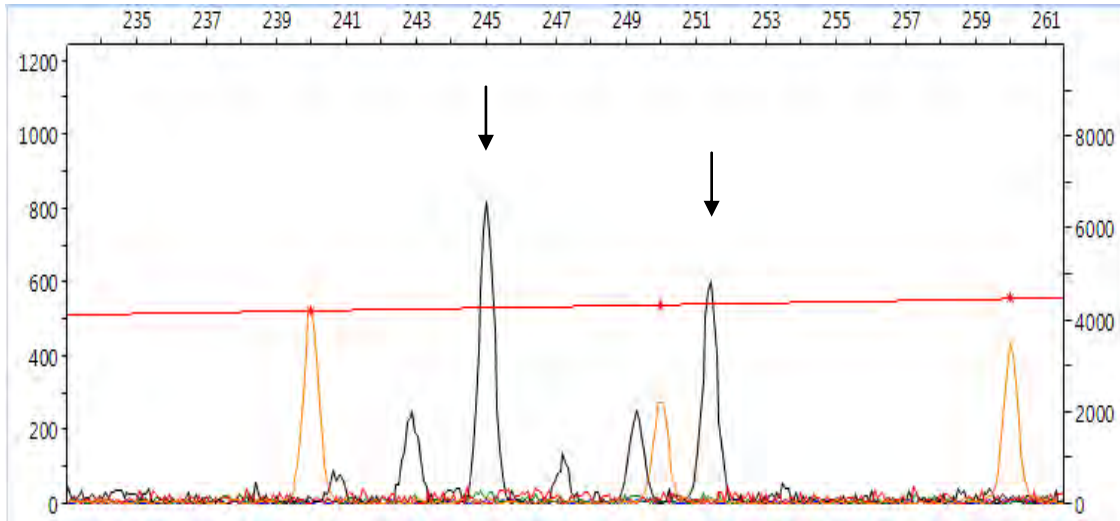


Figura 8. Análisis de los microsatélites con el programa Peak Scanner, marcados con flechas los alelos y a su lado izquierdo sus stutters, mostrando un individuo heterocigoto; línea roja muestra la desviación estándar; curvas en naranja ladder.

5.5. Análisis estadísticos

Se realizó un análisis de la desviación de Hardy-Weinberg para observar si las poblaciones por UMAs para cada estado o los tres estados en conjunto están o no en equilibrio, por medio de una prueba ad-hoc por exceso o deficiencia de heterocigotos en las poblaciones. La significancia se determinó por medio de una prueba exacta de Fisher. Este análisis se llevó a cabo con el programa GENEPOP v4.0 (Rousset, 2008).

Con el programa MICRO-CHECKER (Van Oosterhout *et al.*, 2004) se revisaron posibles corrimientos (stuttering) en el tamaño de bandas, amplificación predominante de alelos pequeños (dropout), pruebas para la presencia de alelos nulos y errores tipográficos; aplicando para ello el ajuste de Brookfield (1996).

Para medir la variación genética entre las poblaciones de Sonora, Chihuahua, Baja California Sur de los seis microsatélites utilizados, se realizó el cálculo de la Heterocigosis Esperada (H_E) y la Heterocigosis Observada (H_O) y posteriormente el coeficiente de endogamia (F_{IS}) con los programas GENEPOP v4.0 y ARLEQUIN v3.5.2 (Excoffier, 2015).

Se llevó a cabo un análisis para medir la estructura genética (F_{ST}) entre las tres poblaciones por medio del número de migrantes de Slatkin (1995) para estas poblaciones, éste análisis considera un modelo simple demográfico en el que un tamaño poblacional divergió hace muchas generaciones de una población de tamaño idéntico y que las poblaciones han permanecido aisladas y asume que no hay migrantes. Se llevó a cabo un análisis de varianza molecular (AMOVA, por sus siglas en inglés) entre las tres poblaciones a analizar, para observar y estimar la cantidad de variación genética que existe entre y dentro de las poblaciones analizadas y en promedio de los microsatélites utilizados para venado bura. Para ambos análisis utilizaron el programa ARLEQUIN v3.5.2.

Con el programa STRUCTURE v.2.3.4 (Pritchard *et al.*, 2015) se realizó un análisis de asignación bayesiana de genotipos para examinar la presencia de estructura genética de grupos genéticos en poblaciones de interés de venado bura, utilizando un valor de “burn-in” de 100,000 iteraciones y un análisis de MCMC (Markov Chain Monte Carlo) de 100,000 iteraciones. Como análisis posterior se utilizó el programa Structure Harvester v.0.6.94 (Earl *et al.*, 2014) para definir el número de grupos genéticos con mejor ajuste a valores de probabilidad obtenidos con el programa STRUCTURE v.2.3.4, usando el método de Evanno *et al.* (2005) para conocer el valor de K y se obtuvo un árbol de Neighbor Joining para observar que tan diferentes son de acuerdo a su estructura genética.

Hedrick (2010) menciona que puede haber valores de desequilibrio de ligamiento significativos en los loci aunque no se encuentren ligados, tal vez debidos a cuellos de botella. El desequilibrio de ligamiento entre pares de loci se analizó utilizando 1,000 permutaciones, con un nivel de significancia de 0.05 en los tres estados con el programa ARLEQUIN v3.5.2.

Se estimó el índice de fijación individual para observar el grado de endogamia para la muestra total. También para analizar la varianza de los alelos en las frecuencias alélicas obtenidos para la distribución poblacional, se realizó un análisis de componentes principales (PCA), con el fin de explorar la estructura genética de los

estados. Todos ellos utilizando los paquetes *adegenet* (Jombart, 2008) y *hierfstat* (Goudet, 2005) con el programa R Core Team (2015).

Se hizo un análisis de paternidad para los individuos utilizados en cada estado por separado con el programa ML-Relate (Kalinowski *et al.*, 2006) para calcular la verosimilitud para cuatro posibles parentescos: -U-Unrelated (no relacionados), -HS-Half sibs (medios hermanos), -FH-Full sibs (hermanos completos), -PO-Parent/Offspring (progenitor/hijo) para cada pareja de individuos de cada uno de los estados.

6. RESULTADOS

En primer lugar se debe señalar que en total se montaron 14 microsatélites, sin embargo, los ocho restantes no amplificaron o fueron monomórficos (ver Anexo 7). Seis microsatélites fueron polimórficos, cuatro de ellos BM1818, AGLA293, D16S3 y MAF48 mostraron de 4 a 10 alelos, mientras que dos MAF36 y BM2113 fueron menos polimórficos ya que presentaron únicamente dos alelos. Los dos microsatélites se excluyeron, porque a pesar de que presentaron variación y sus cromatogramas eran coherentes, se observó que eran heterocígos con dos alelos para todos los individuos. Debido a esto se decidió hacer la comparación del juego de datos con dichos loci y sin ellos. El programa MICRO-CHECKER no encontró posibles errores causados por el bandeo o deserción de alelos grandes, por lo que se puede inferir que la captura de datos fue correcta. Sin embargo, el programa encontró una potencial ocurrencia de alelos nulos en dos loci (AGLA293 y MAF48), sugiriendo ajustes en las frecuencias genotípicas, lo cual se realizó para poder analizar los datos.

Los valores de Heterocigosis Observadas (H_O) y Heterocigosis Esperadas (H_E), para los seis microsatélites utilizados y la comparación con solamente los cuatro microsatélites que presentaron mayor número de alelos se observan en la Tabla 3, mostrando una mayor variación para el locus D16S3 y BM1818 ($H_E=0.77513$), junto con MAF48 ($H_E=0.72232$) y AGLA293 ($H_E=0.74782$) y menor variación para los loci MAF36 ($H_E=0.051183$) y BM2113 ($H_E=0.55282$).

Tabla 3. Valores de Heterocigosis Observada (H_O), Esperada (H_E), la desviación estándar promedio de H_E (s.d.) con relación a los seis microsatélites.

Locus	Rango alélico	No. alelos	Alelos nulos	6 loci			4 loci		
				H_O	H_E	s.d.	H_O	H_E	s.d.
BM2113	112-120	2	No	0.9538	0.5528	0.0334	---	---	---
AGLA293	197-221	10	Si	0.3485	0.7478	0.1150	0.3485	0.7478	0.1187
BM1818	241-155	6	No	0.4650	0.7293	0.0351	0.4650	0.7293	0.0336
D16S3	179-193	8	No	0.5982	0.7751	0.0351	0.5982	0.7751	0.0350
MAF36	108-110	2	No	1.0000	0.5118	0.0092	----	----	----
MAF48	157-169	4	Si	0.3680	0.7223	0.0582	0.3680	0.7223	0.0581
PROMEDIO	----	----	----	0.6223	0.6732	0.0296	0.4449	0.7436	0.0383

Los valores significativos con un $p \leq 0.05$ para la desviación de Hardy-Weinberg (HW) con respecto a la deficiencia (DG) o exceso de heterocigos (EG), para los tres estados (Baja California Sur, Chihuahua y Sonora) utilizando los seis y cuatro microsatélites por separado se muestran en la Tabla 4 y 5. Se obtuvo que la mayor variación para ambos casos corresponde al estado de Sonora con un valor de $H_E=0.706-0.786$ mientras que el estado con variación relativamente baja es BCS con un valor de $H_E=0.649-0.712$.

Tabla 4. Valores de H_O , H_E , desviaciones estándar promedio (s.d.), F_{IS} y valores significativos de $P \leq 0.05$ de la desviación de $H-W$ (con ***), N: tamaño de muestra para los 3 estados utilizando seis microsatélites.

	Población	N total		# alelos promedio	H_O	s.d.	H_E	s.d.	F_{IS}	HW
		hembras	machos							
Estados	1 (BCS)	12		3.50	0.6389	0.340	0.6488	0.111	-0.1443	---
		1	11							
	2 (Chih.)	25		5.00	0.5800	0.316	0.6650	0.119	-0.1418	---
		5	20							
	3 (Son.)	71		5.67	0.6479	0.250	0.7060	0.131	-0.1531	0.0066***
		27	44							
	Promedio	108		---	0.6223	0.302	0.6733	0.120	-0.1464	---

Tabla 5. Valores de H_O , H_E , desviaciones estándar promedio (s.d.), F_{IS} y valores significativos de $P \leq 0.05$ de la desviación de $H-W$ (con ***) para los 3 estados utilizando cuatro microsatélites.

	Población	N total		# alelos promedio	H_O	s.d.	H_E	s.d.	F_{IS}	HW
		hembras	machos							
Estados	1 (BCS)	12		4.250	0.4583	0.2500	0.7119	0.0668	0.2198	0.0225***
		1	11							
	2 (Chih.)	25		6.250	0.3800	0.0766	0.7329	0.0706	0.2649	0.0000***
		5	20							
	3 (Son.)	71		7.250	0.4965	0.1050	0.7861	0.0392	0.1795	0.0000***
		27	44							

	Promedio	108	---	0.4449	0.1439	0.7436	0.0589	0.2214	---
--	----------	-----	-----	--------	--------	--------	--------	--------	-----

En la Tabla 6 se observan los valores de heterocigosis (H_E y H_O) relacionadas a las distintas UMAs correspondientes a cada estado cuando se utilizan seis y cuatro microsatélites. Se obtuvo que la mayor variación se encuentra en la UMA Sta. Anita ($H_E=0.704-0.817$), mientras que cuando se utilizan seis microsatélites hay diferencias siendo la UMA Coyame ($H_E=0.588$) con menor variación con respecto a las demás es la UMA La Tortuga (0.5556). En cambio cuando se utilizan solo cuatro microsatélites las UMAs Los Pumas y El Tepeyac fueron los de menor variación ($H_E=0.6375$ y $H_E=0.6500$, respectivamente). La UMA Baboyagui para ambos casos no presentó variación al ser solo un individuo.

Tabla 6. Valores de H_O , H_E y F_{IS} con relación a las distintas UMAs de los estados utilizando los seis microsatélites, HW (***) $P \leq 0.05$.

	Estado	Población	N	6 loci				4 loci			
				H_O	H_E	F_{IS}	HW	H_O	H_E	F_{IS}	HW
UMAs	BCS	ROS	2	0.8333	0.6667	-0.2500	---	0.5000	1.0000	0.5000	---
		PUM	10	0.6667	0.5917	-0.1268	---	0.5000	0.6375	0.2157	0.0240***
	Chih.	STA	5	0.7143	0.7039	-0.0148	---	0.5556	0.8171	0.3201	0.0130***
		COY	20	0.6907	0.5879	-0.1749	---	0.4828	0.6470	0.2539	0.0003***
	Son.	BAB	1	---	---	---	---	---	---	---	---
		TOR	3	0.5556	0.6528	0.1489	---	0.3333	0.7292	0.5429	0.0170***
		ANI	11	0.7647	0.6400	-0.1948	---	0.6000	0.7381	0.1871	0.0508***
		RAN	10	0.7200	0.6458	-0.1148	---	0.5484	0.7352	0.2541	0.0032***
		TEP	7	0.8000	0.5975	-0.3389	0.03 21***	0.6923	0.6500	-0.0651	---
		CAN	39	0.7723	0.6481	-0.1917	---	0.6434	0.7319	0.1209	0.0066***

Las frecuencias alélicas obtenidas para cada alelo de cada UMA y cada estado se muestran en el Anexo 5. Se observaron diferencias entre los valores de variación genética entre poblaciones, estados y cada una de las UMAs.

Los distintos valores de los estadísticos de F de Wright (F_{IS} , F_{ST} , F_{IT}) de estructura genética y endogamia estimados con el método de Weir y Cockerham

(1984) para cada población (Sonora, Chihuahua y Baja California Sur) para cada locus y el promedio total de cada uno se muestran en la Tabla 7.

En la Tabla 8 se muestran los valores de F_{ST} , en donde los estados con la menor estructura genética fueron Sonora y Baja California Sur y los estados con mayor estructura genética fueron Chihuahua y Baja California Sur. Se observó mayor diferenciación genética entre los estados de Sonora y Baja California Sur y menor diferenciación genética entre los estados de Chihuahua y Baja California Sur. En un nivel intermedio para ambos casos se encuentran los estados de Sonora y Chihuahua.

Tabla 7. Valores de F de Wright (F_{IS} , F_{ST} , F_{IT}), obtenidos para los seis microsatélites en los tres estados utilizando solo cuatro microsatélites.

Locus	F_{IS}	F_{ST}	F_{IT}
AGLA293	0.2922	0.0645	0.3379
BM1818	0.0786	0.0750	0.1477
D16S3	-0.0902	0.0799	-0.0031
MAF 48	0.4322	0.0362	0.4528
Promedio	0.1782	0.0639	0.2338

Tabla 8. Matriz de distancia de F_{ST} para los tres estados (abajo); número de migrantes en el equilibrio aproximados por el método Slatkin (1985) (arriba) utilizando cuatro microsatélites.

	1 (BCS)	2 (Chih.)	3 (Son.)
1 (BCS)	*****	0.09362	0.03321
2(Chih.)	0.08561	*****	0.06046
3 (Son.)	0.03214	0.05702	*****

En la Tabla 9 se muestra el Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) obtenida, en donde se observa la diferencia de variación genética que hay dentro y entre las tres poblaciones analizadas (Baja California Sur, Chihuahua, Sonora), mostrando menor varianza entre los estados (4.51%) y mayor variación genética dentro de los estados (95.49%). El valor de F_{ST} global fue de 0.04510.

Tabla 9. Análisis de Variación Molecular para las tres poblaciones y cuatro microsatélites de Venado Bura.

Fuente de variación	g.l	Porcentaje de variación
Entre estados	2	4.51
Dentro de estados	213	95.49
TOTAL	215	

El análisis de asignación Bayesiana de genotipos de los tres estados se observa en la Figura 9, donde se muestra un gráfico en donde el eje de las x representa a los individuos con el número de población a la que pertenecen (1: Baja California Sur, 2: Chihuahua, 3: Sonora); mientras que el eje de las y representa la probabilidad de pertenencia a cada grupo genético.

Los resultados sugieren que hay tres grupos genéticos que corresponden a los tres estados presentados en color rojo (Baja California Sur), verde (Chihuahua) y azul (Sonora), algunos individuos de los tres estados presentan dos colores. Se obtuvo un valor de K igual a 3, mostrando el mayor valor de probabilidad respecto a los demás y menor desviación estándar, de acuerdo al método de Evanno *et al.* (2005) (Figura 10).

En la Figura 11 se muestra el árbol de *Neighbor-Joining* dado con Structure para los tres estados, mostrando que los estados de Sonora y Chihuahua son genéticamente más similares, mientras que Baja California Sur es bastante más diferente a ambos.

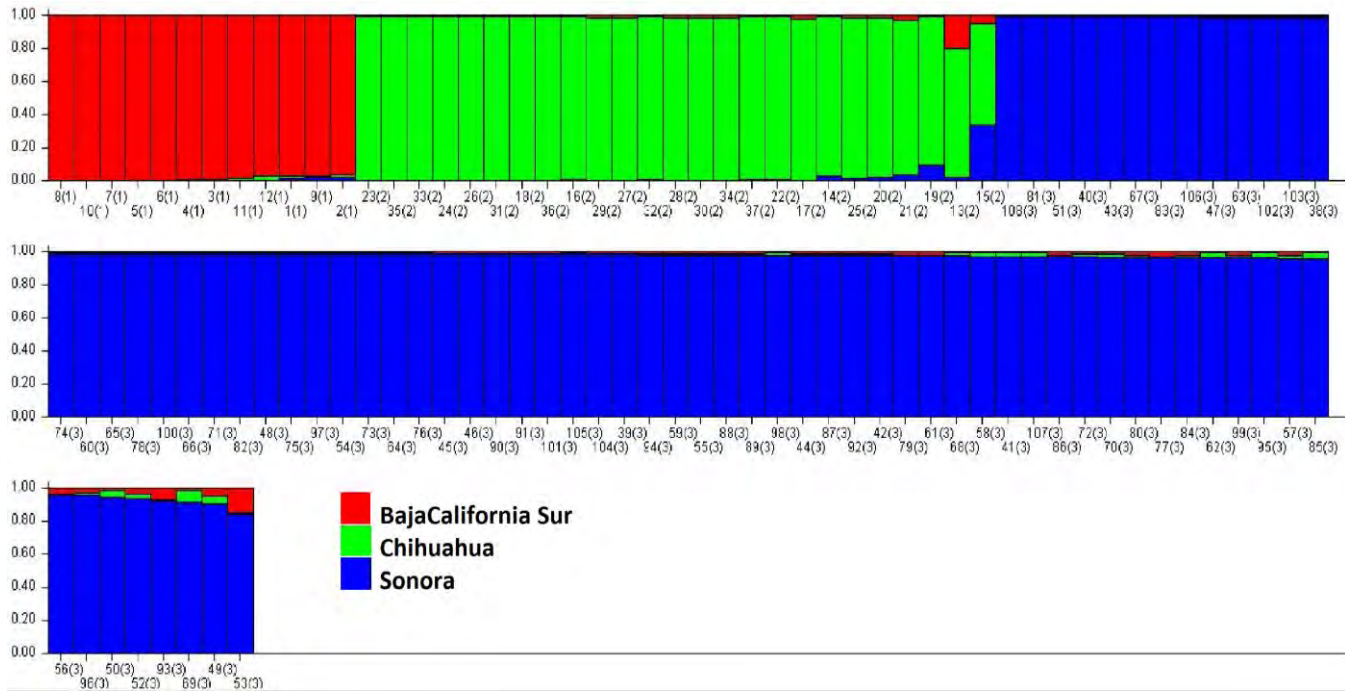


Figura 9. Asignación de individuos en grupos genéticos obtenido con Structure.

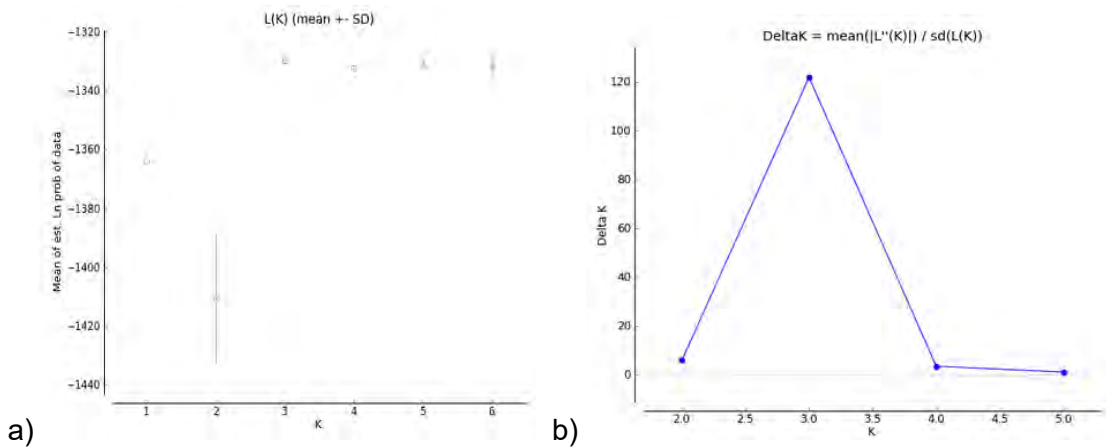


Figura 10. Gráficos del método de Evanno *et al.* (2005), eje de las y a) el promedio de probabilidad Ln de los datos y b) Delta K.

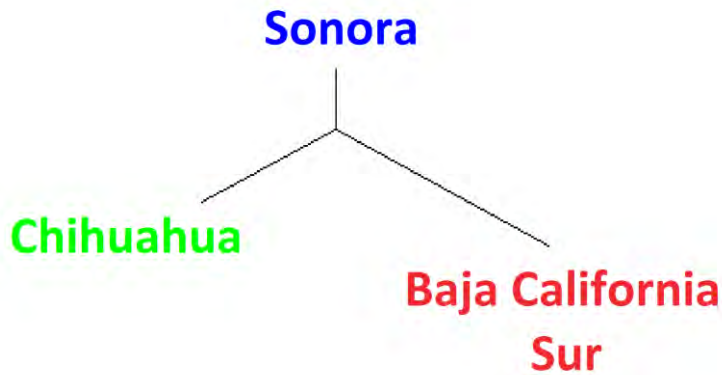


Figura 11. Árbol de *Neighbor-Joining*, dado con el programa Structure.

En la Tabla 10 se observan los valores significativos con un valor de $p=0.05$ para el desequilibrio de ligamiento generados para cada uno de los estados. Para el estado de Sonora, se encontraron asociaciones en los loci AGLA293 con D16S3 y MAF48, junto con BM2113 con D16S3. Para los estados de Sonora y Baja California Sur únicamente hay ligamiento en los loci BM2113 y D16S3. Para el estado de Chihuahua hay ligamiento en los loci D16S3 y MAF 48.

Tabla 10. Valores significativos de desequilibrio de ligamiento con un $p=0.05$ marcados con letra BCS (a), Chihuahua (b), Sonora (c). (Locus 1: AGLA293, locus 2: BM2113, locus 3: D16S3, locus 4: MAF48)

Locus	1	2	3	4
1	*****	a b c	a c	a b c
2	a b c	*****	b c	-
3	a c	b c	*****	b
4	a b c	-	b	*****

En la Figura 12 se muestra el índice de fijación en los tres estados, con valores cercanos a 0.6 en los estados de Sonora y Chihuahua, mientras que para BCS el nivel de endogamia fue de 0.4. Los estados de Baja California Sur y Chihuahua presentan dos picos distintos de acuerdo a sus niveles de endogamia. Sin embargo,

cuando se compara estos valores en relación cuando se utilizan cuatro loci, se observa que todas las poblaciones tienen un nivel de endogamia que varía de 0.8 a 1.

En la Figura 13 se muestra un análisis de componentes principales en donde se observan la integración de los individuos con relación a sus diferencias genéticas; en éste, algunos individuos se diferencian del resto de los individuos del grupo central para los tres estados.

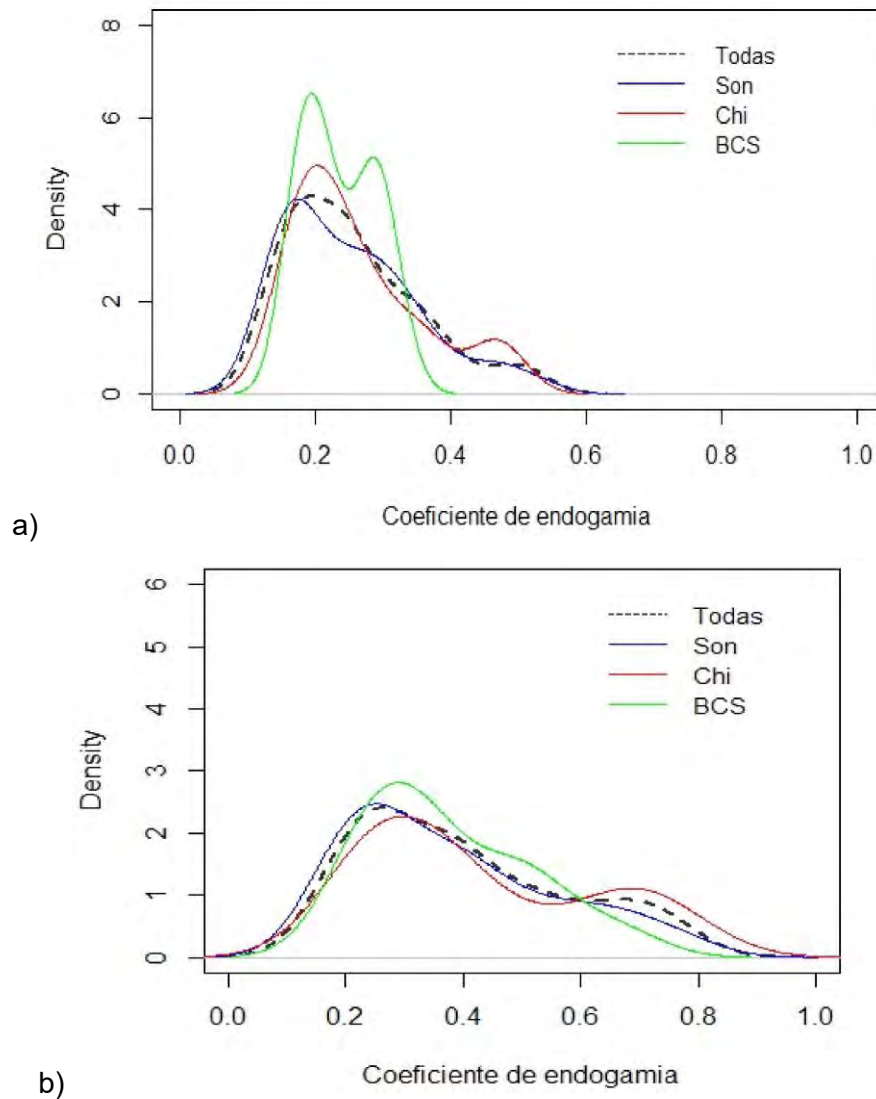


Figura 12. Coeficientes de endogamia (F_{ST} pareada) para los tres estados utilizando a) seis loci y b) cuatro loci.

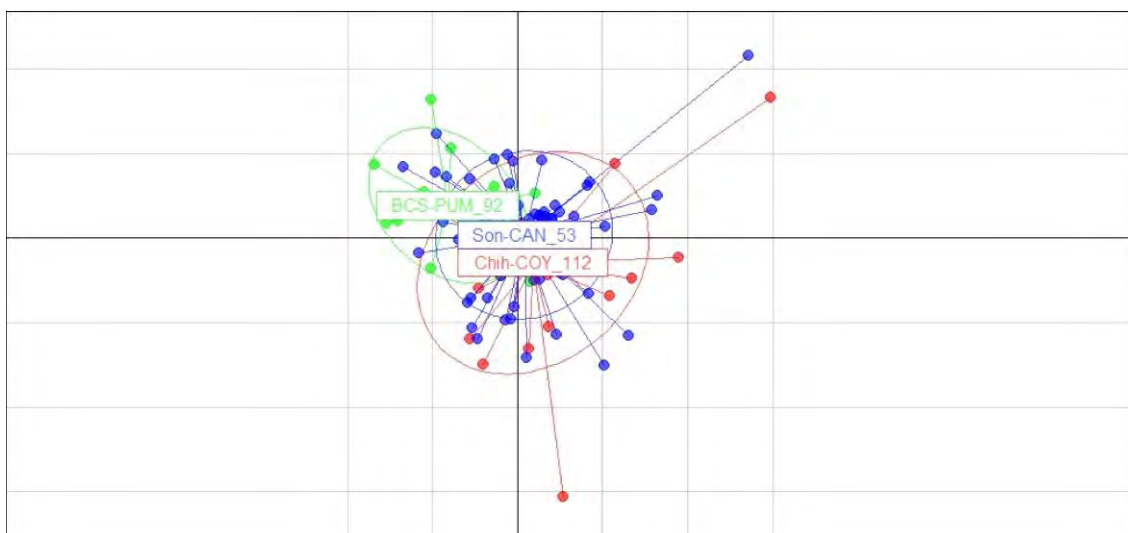


Figura 13. Análisis de componentes principales (PCA).

La relación de parentesco entre cada pareja de individuos como simulación del análisis de paternidad (ver Anexo 6) se divide en: no relacionados (U: Unrelated), medios hermanos (HS: Half sibs) o hermanos completos (FH: Full sibs) y progenitor-hijo (PO: Parent/Offspring). El mayor porcentaje no están relacionados, 68% a 79% para los tres estados (Figura 14, Tabla 11). Sin embargo para todas las poblaciones los porcentajes de HS, FS y PO van de 3% a 15%, es decir, porcentajes menores de individuos que son hermanos completos, medios hermanos y progenitores/hijos.

Tabla 11. Porcentajes de relación entre individuos de venado bura para los tres estados utilizando cuatro loci.

Relación entre individuos	Total (%)	Baja California Sur (%)	Chihuahua (%)	Sonora (%)
NR	70.27	79.31	68.67	70.15
HC	11.99	4.60	14.67	11.93
MH	5.58	5.75	3.33	5.84
PH	12.16	10.34	13.33	12.09

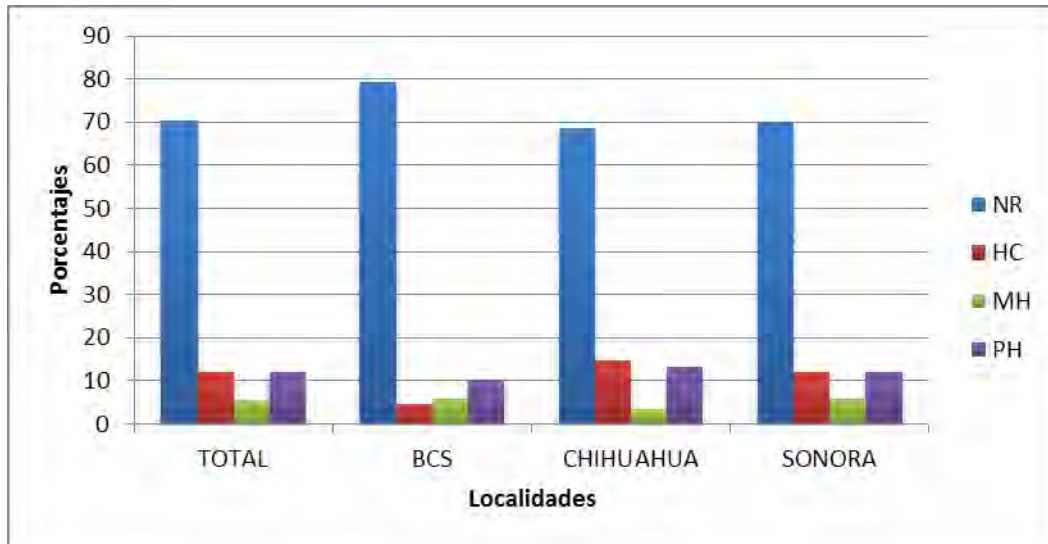


Figura 14. Porcentajes de relacion entre individuos de los tres estados y el total de ellos (NR: no relacionados, HC:hermanos completos, MH: medio hermanos y PH: progenitor/hijo).

7. DISCUSIÓN

Para algunos análisis se hicieron comparaciones de acuerdo a lo obtenido para seis y cuatro loci, para algunos otros solo se utilizó únicamente lo dado para los cuatro o los seis loci. Esto se debe a que había diferencias entre los valores de cada análisis realizado ya que dos de los loci (MAF36 y BM2113) tuvieron dos alelos, los cuales metían ruido en los análisis presentando puros heterocigos en ellos.

7.1 Variación genética

La alta variación genética encontrada en el venado bura cuando se utilizan distintos marcadores moleculares es interesante. Los valores de heterocigosis observados y esperados reportados para marcadores nucleares (microsatélites) en distintas especies de Artiodáctilos (Tabla 12) oscilan entre $H_O=0.289-0.700$ y $H_E=0.125-0.744$. Cabe resaltar que algunos de los valores más altos de variación se han reportado en el género *Odocoileus*.

Los niveles de variación genética encontrados en este trabajo para *O. hemionus* utilizando microsatélites nucleares y los datos de mitocondria de Orozco Jiménez (2012), muestran que las poblaciones de los tres estados (BCS, Sonora y Chihuahua) para ambos genomas presentan una alta variación, siendo Sonora ($H_E=0.627-0.786$ (nuclear)/0.961 (mitocondrial)) el estado con mayor variación, seguidos de BCS ($H_E=0.648-0.712/0.982$) y Chihuahua ($H_E=0.665-0.733/0.715$). Resulta interesante que a pesar de ser encierros intensivos, en las poblaciones de Sonora y Chihuahua se esperaba que no presentarían tanta variación debido a que son especies con espacios de confinamiento, por lo que es más difícil su manejo aun cuando sean para repoblar zonas nuevas. Por el contrario, se observó lo esperado para BCS, es decir, también tiene una alta variación genética ya que es un encierro de vida libre.

Tabla 12. Comparación de los resultados de H_O , H_E y valores de endogamia F_{IS} obtenidos en trabajos previos.

Espece	Micro-satélites	Población	N	H_O	H_E	F_{IS}	Referencia
<i>Ovis canadensis</i>	10	Rancho Pilares	43	0.454	0.535	0.150	Durán Álvarez (2013)
<i>Ovis canadensis</i>	6	Isla Tiburón y noreste de Sonora	105	0.289/ 0.476	0.732/ 0.716	0.613/ 0.307	Abad Zabaleta (2006)
<i>Mazama gouazoubira</i>	9	Sudamérica	35	0.700	0.869	0.252	Da Rosa (2014)
<i>Mazama gouazoubira</i>	7	Neotrópico (Sudamérica)	8	---	0.700	---	Ruíz García et al (2009)
<i>Mazama americana</i>	9		22	---	0.643	---	
<i>Mazama Rufina</i>	4		2	---	0.125	---	
<i>Pudu mephistopheles</i>	4		2	---	0.406	---	
<i>Ozotoceros bezoarticus</i>	4		2	---	0.500	---	
<i>Bastocerus dichotomus</i>	7		8	---	0.359	---	
<i>Hippocamelus antisensis</i>	2		4	---	0.503	---	
<i>Odocoileus virginianus</i>	9		23	---	0.615	---	
<i>Odocoileus virginianus</i>	12		México	90	0.556	0.742	
<i>Odocoileus virginianus</i>	---	Noreste de México	105	---	0.758	---	Logan López et al (2007)
<i>Odocoileus hemionus</i>	4/6	Sonora, Chihuahua, BCS	108	0.445/ 0.622	0.673/ 0.744	-0.146/ 0.221	Bazaldúa Lazo (2016)

De acuerdo con lo observado para HW (Tabla 4 y 5) en los tres estados muestra que cuando se toman en cuenta seis loci, únicamente el estado de Sonora, (el cual es encierro intensivo) se encuentra en equilibrio, lo cual puede deberse a que hay un mayor número de muestras que tengan un exceso en el número de heterocigos. Por el contrario cuando se utilizan cuatro loci todos los estados, sin importar si son encierros de vida libre o intensivos, se encuentran en equilibrio, ya que presentan valores significativos de deficiencia de heterocigos. Lo cual al tener menor número de loci que presenten variación (mayor o menor número de heterocigos y homocigos) hará que haya diferencias entre el equilibrio.

Las UMAs con valores de variación genética más altos utilizando seis y cuatro loci para el presente trabajo pertenecen a El Rosario ($H_E=0.667-1$) y Sta. Anita ($H_E=0.817$), mientras que la de menor variación es Los Pumas ($H_E=0.592-0.637$). Por el contrario, se muestran diferencias para lo reportado por Orozco Jiménez (2012), siendo Los Pumas ($H_d=0.972$) la UMA con mayor variación genética, mientras que la de menor variación fue Coyame ($H_d=0.549$) (Tabla 13).

Resulta interesante que a pesar de ser las mismas poblaciones de venado bura para el presente trabajo y lo reportado por Orozco Jiménez (2012), se muestran diferencias en la variación genética siendo Coyame, Sta. Anita, Las Ánimas, La Candelaria, Rancho el 60, El Tepeyac y Los Pumas las únicas UMAs, que muestran variación, mientras que el resto no la presentan. Mientras que para el presente trabajo todas las UMAs con excepción de Baboyagui muestran altos niveles de variación genética (Tabla 13).

Tabla 13. Comparación de variación genética en venado bura utilizando marcador mitocondrial y nuclear (microsatélites).

	Región	N	Mitocondrial	N	Nuclear	
			H_d		H_E (6 loci)	H_E (4 loci)
Estados	BCS	11	0.9818	12	0.6488	0.7120
	Chihuahua	23	0.7154	25	0.6650	0.7329
	Sonora	60	0.9818	71	0.7060	0.7861
UMAs	ROS	---	---	2	0.6667	1.0000
	PUM	9	0.9722	10	0.5917	0.6375
	STA	5	0.9000	5	0.7039	0.8171
	COY	18	0.5490	20	0.5879	0.6470
	BAB	---	---	1	---	---
	TOR	---	---	3	0.6528	0.7292
	ANI	5	0.7000	11	0.6400	0.7381
	RAN	10	0.8444	10	0.6458	0.7352
	TEP	6	0.9333	7	0.5975	0.6500
	CAN	35	0.9311	39	0.6481	0.7319

7.2 Estructura y diferenciación genética

Dentro de las poblaciones analizadas, existe una relación en los valores de F_{ST} (estructura y diferenciación genética) entre los estados, donde se muestra mayor estructura y menor diferenciación entre Sonora y Baja California Sur, así como menor estructura genética y mayor diferenciación entre Baja California Sur y Chihuahua. Esto posiblemente se debe que al ser valores muy pequeños y parecidos de estructura y diferenciación genética no hay migrantes entre los estados, por el contrario hay efectos de deriva génica, ya que probablemente las poblaciones eran muy grandes históricamente, o que las poblaciones se hayan separado hace poco tiempo.

Esto concuerda con el árbol de *Neighbor-Joining* (Figura 11) y con la asignación Bayesiana (Figura 9). Tenemos tres grupos genéticos muy diferentes, siendo los estados de Sonora y Chihuahua los que presentan menor distancia

genética. Esto es de interés ya que al ser estados que colindan geográficamente y que son encierros intensivos, presentan niveles de estructura genética alta. Además se relacionan con la existencia de tres grupos genéticos para el presente trabajo coincidentemente con el realizado por Orozco Jiménez (2012).

En el caso del PCA (Figura 13) se observó una dispersión de ciertos individuos, representados por puntos para los tres estados. Algunos individuos de los tres estados son genéticamente más distintos respecto a los otros, es decir, presentan mayor variación, lo cual favorece a los niveles altos de variación genética dentro de las poblaciones. Esto puede deberse a que son individuos que pueden no estar apareándose, o son individuos viejos o son muy jóvenes.

7.3 Desequilibrio de ligamiento

Se observó que en los cuatro loci que se utilizaron, hubo desequilibrio de ligamiento entre ellos, lo cual se debe a que se encuentran en el mismo cromosoma aunque no estén asociados entre sí. Solamente se obtuvo que dos loci (AGLA293 y MAF36) que son alelos nulos, no tuvieron desequilibrio entre ellos. De igual manera, se puede deber a que son poblaciones que fueron fundadas recientemente, haciendo que la selección también favorezca ciertos genotipos. Sin embargo, hay mayor desequilibrio en las poblaciones de Sonora debido a que hay mayor número de individuos presentes en las poblaciones de este estado y las UMAs son más.

7.4 Patrones de endogamia

Los análisis de endogamia (Figura 12 y 13) y los valores significativos para el equilibrio de *HW* (Tablas 4-6) están relacionados, siendo similares para todos los estados. En general hay una deficiencia de heterocigos, ya que la endogamia es la fuerza evolutiva que afecta en su reducción, lo cual muestra que a pesar de ser un poco altos los niveles, en comparación con otras especies de Artiodáctilos (Tabla 12) es suficiente para disminuir los heterocigos en los estados de Sonora y Chihuahua principalmente.

Cuando se utilizan seis o cuatro microsatélites, se observó que Chihuahua y Baja California Sur muestran dos picos de endogamia, esto es debido a que uno de los factores principales es la estructura social del venado bura. Weber y Galindo (1984) y Fullbright y Ortega (2007) mencionan que las hembras y los machos adultos con frecuencia se encuentran separados y utilizan diferentes hábitats con excepción de la temporada de apareamiento. Los machos forman nuevas subpoblaciones, beneficiándose estas poblaciones con la llegada de otros machos con alelos nuevos que fortalecen genéticamente las poblaciones.

A diferencia de otros artiodáctilos que sí presentan estructura poligámica (harems), el venado bura a pesar de ser poligínico, los machos permanecen con una hembra hasta el apareamiento y posteriormente se mueven para encontrar otra hembra. Cabe resaltar que esto favorece a que los niveles de endogamia se mantengan bajos (Galindo Leal y Weber, 1998). Los resultados acerca de análisis de parentesco reflejan que a pesar de haber menor cantidad de individuos que tienen relación entre ellos ya sea siendo hermanos completos (HC), medios hermanos (MH) o progenitor-hijo (PH) y habiendo mayor número de individuos que no tienen relación, influyen en los dos picos y niveles de endogamia para estas poblaciones.

7.5 Manejo y conservación

El venado bura presenta altos niveles de variación genética a comparación de otros artiodáctilos (Tabla 12), a pesar de no haber mucha estructura y ser regiones destinadas a la conservación (UMAs) en donde lo que se pretende es la conservación de las especies. Además de que estos niveles altos de variación genética en las poblaciones se deben a que la mayoría de las muestras utilizadas fueron en mayor proporción de individuos machos con relación a menor cantidad de individuos que fueran hembras.

De acuerdo con lo anterior se muestra que hay un manejo parcialmente adecuado dentro de las UMAs donde se localiza el venado bura, evitando que haya una mala reintroducción de individuos que lleguen a unificar a las poblaciones

disminuyendo la variación genética, e incluso evitar a que los niveles de endogamia y deriva génica aumenten en las poblaciones para que no disminuyan los valores de variación genética de venado bura.

Se muestra que muchas de las UMAs analizadas con relación a valores altos de variación genética permiten que haya una estrategia efectiva para la conservación de la especie, ya que estos niveles no presentan mucha diferencia con respecto a cuándo se utiliza región mitocondrial. Sin embargo, hay otras UMAs que por el contrario se ven afectadas y las estrategias que realizan no son tan efectivas para lograr mantener la variación genética. Este resultado sugiere que para fines de manejo y de conservación se debe tener una buena representación de variación genética en las localidades.

Es de suma importancia evaluar previamente el comportamiento de los microsatélites, ya que si salen raros, el análisis puede sesgarse. En nuestro caso sospechamos que estos dos marcadores (BM113 y MAF6) presentaron artefactos de amplificación que pudieron causar la señal de exceso de heterocigos observada.

Finalmente con los datos proporcionados en esta investigación utilizando microsatelites junto con la integración de estos utilizando región mitocondrial y datos ecológicos ayudará a que el plan de manejo y conservación del venado bura en México sea estable a través de los años, permitiendo que los niveles de variación se mantengan altos, así como también que las fuerzas evolutivas de endogamia, deriva génica y estructura génica entre y dentro de las poblaciones se conserven en niveles bajos para que no se vean afectadas las poblaciones.

8. CONCLUSIONES

- Las poblaciones de los estados de Baja California Sur, Chihuahua y Sonora presentan niveles de variación genética altos en comparación a lo reportado.
- Hay mayor variación genética dentro de cada estado con respecto a cada una de las UMAs, mostrándose una diferenciación genética marcada.
- Los niveles de endogamia y deriva génica dentro de los estados indicaron que ambos actúan juntos haciendo que los heterocigos se sigan manteniendo dentro de las poblaciones para mantener esta variación genética, teniendo un valor de F_{ST} muy bajo.
- Gracias a estos datos se puede implementar el manejo y conservación del venado bura en México, evitando la reintroducción de individuos de los distintos estados ya que están adaptados a sus ambientes y hábitats, así como mantener el intercambio de individuos del mismo grupo genético (estado) al que pertenecen para favorecer los altos niveles de variación genética y baja endogamia.

9. SUGERENCIAS PARA MANEJO

- Permitir la conectividad dentro de las localidades de los Estados, para el intercambio de individuos.
- El estado de BCS es diferente genética y ambientalmente, por lo que se recomienda mantenerla separada del resto como Unidad Evolutivamente Significativa (ESU, por sus siglas en ingles).
- Para fundar nuevas UMAs es necesario considerar que se cuente con distintos individuos de cada estado.
- Se pueden fundar nuevas poblaciones con diferentes individuos de Sonora y Chihuahua ya que ambos se localizan en el desierto Sonorense.
- Es recomendable, en caso de querer fundar nuevas UMAs o poblaciones, tomar individuos de La Candelaria y El Tepeyac de Sonora y Sta. Anita y Coyame de Chihuahua.

10. PERSPECTIVAS

Se recomienda que para los estados de Baja California Sur y Chihuahua, en un futuro análisis haya mayor número de individuos con respecto a los de Sonora, así como considerar obtener muestras de individuos silvestres para que se puedan incluir en futuras investigaciones. Además que haya mayor cantidad de marcadores moleculares y mitocondriales que sean en su mayoría polimórficos para que la información sea más fehaciente y adecuada para hacer posible planes de manejo y de conservación.

11. REFERENCIAS

- Anderson, A. E. y O. C. Wallmo. 1984. *Odocoileus hemionus*. Mammalian Species. American Society of Mammalogists. **219**: 1-9.
- Brookfield, J. F. Y. 1996. A simple new method for estimating null allele frequency from heterozygote deficiency, *Molecular Ecology*, **5**, 453-455.
- Cabrero, J. y J. P. M. Camacho. 2002. Fundamentos de genética de poblaciones. En Soler, M. Evolución: la base de la biología. Proyecto sur de ediciones, 106 pp.
- Calderón Lobato, R. D. 2009. Análisis genético para la conservación y manejo de subespecies de *Odocoileus virginianus* (Zimmermann, 1780) en México. Tesis profesional de maestría. Centro de biotecnología genómica, Instituto Politécnico Nacional, Tamaulipas, 102 pp.
- Ceballos, G. y Oliva G. 2005. Los mamíferos silvestres de México. CONABIO-UNAM. Fondo de Cultura Económica, México, D.F.
- Da Rosa. 2014. Caracterización de un set de microsatélites para la especie *Mazama gouazoubira* (Mammalia: Cervidae; Fischer, 1814). Laboratorio de Genética de la Conservación, Departamento de Biodiversidad y Genética, División Genética y Biología Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable.
- De la Rosa-Reyna, X. F., R. D. Calderón-Lobato, G. M. Parra-Bracamonte, A. M. Sifuentes-Rincón, R. W. DeYoung, Francisco J. García-De León, y Williams Arellano-Vera. 2012. Genetic diversity and structure among subspecies of white-tailed deer in Mexico. *Journal of Mammalogy*. American Society of Mammalogist. **93(4)**:1158-1168.
- Earl, D. A y B. M. vonHoldt. 2014. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*. **4(2)**: 359-361.
- Eguiarte, L. 1999. Una guía para principiantes a la genética de poblaciones. En la Evolución biológica. Instituto de Ecología, UNAM, México, 35-49 pp.
- Eguiarte, L. E. y D. Piñero. 1990. Genética de la conservación: leones vemos, genes no sabemos. Centro de Ecología y Conservación en México, UNAM, *Ciencias*. Número especial 4. México.
- Eguiarte, L., V. Souza y X. Aguirre. (Compiladores). 2007. *Ecología molecular*. 1° edición. CONABIO, INE, SEMARNAT, México, 595 pp.

- Evanno G., S. Regnaut y J. Goudet. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*. **14**:2611-2620.
- Excoffier, L., G. Laval y S. Schneider. 2015. Arlequin ver. 3.5.2. An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*. Universidad de Berna. Suiza **1**:47-50.
- Frankham, R., J. D. Ballou y D. A. Briscoe. 2010. Introduction to conservation genetics. 2a edición. Universidad de Cambridge, 644 pp.
- Fulbright, T. E. y J. A. Ortega-S. 2007. Ecología y manejo de venado cola blanca. Texas A y M, University Press, 264 pp.
- Galindo-Leal, C. y M. Weber. 1998. El venado de la Sierra Madre Occidental: Ecología, manejo y conservación. EDICUSA-CONABIO, México, 272 pp.
- Gallina, S. y A. L. Escobedo Morales. 2009. Análisis sobre las Unidades de Manejo (UMAs) de ciervo rojo (*Cervus elaphus* Linnaeus, 1758) y wapití (*Cervus canadensis* Linnaeus, 1758) en México: problemática para la conservación de los ungulados nativos. *Tropical Conservation Science* **2(2)**:251-265.
- Gallina Tessaro, S. A., A. Hernández Huerta, C. A. Delfin Alfonso, A. González Gallina. 2009. Unidades para la conservación, manejo y aprovechamiento sustentable de la vida silvestre en México (UMA). Retos para su correcto funcionamiento. *Investigacion ambiental*, **1(2)**:143-152.
- Godoy, J. A. 2009. La genética, los marcadores moleculares y la conservación de especies. España. Asociación española de Ecología Terrestre. *Ecosistemas*, **18(1)**:23-33.
- González, E.G. 2003. Microsatélites: sus aplicaciones en la conservación de la biodiversidad. *Graeisis*, **59(2-3)**:377-388.
- Goudet, J. 2005. Hierfstat, a package for R to compute and test hierarchical F-statistics. *Molecular Ecology Notes*. **5**: 184-186. Disponible en: <http://www.unil.ch/popgen/software/hierfstat.htm>
- Hedrick P. W. 2010. Genetics of population. 4ª edición. Jones and Bartlett publishers, USA.
- Hernández Baños, B. E.; *et al.* 2007. Métodos y análisis de la filogeografía. En Eguiarte, L., V. Souza y X. Aguirre. (Compiladores). Ecología molecular. CONABIO, INE, UNAM, SEMARNAT, México, 473 pp.

- Hernández Llamas, A. R. 2014. Variabilidad genética y relación filogeográfica de tres subespecies de venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) en la región Centro-Norte de México. Tesis profesional de maestría. Colegio de postgraduados, Institución de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas, Montecillo, Texcoco, Edo. de México, 67pp.
- Jombart T. 2008. Adegnet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics* **24**: 1403-1405.
- Kalinowski, S. T., A. P. Wagner y M. L. Taper. 2006. *ML-Relate*: a computer program for maximum likelihood estimation of relatedness and relationship. *Molecular Ecology Notes* **6**:576-579.
- Logan-López, K., E. Cienfuegos-Rivas, A. Sifuentes-Rincón, M. González-Paz, F. Clemente-Sánchez, G. Mendoza-Martínez y L. Tarango-Arámula. 2007. Patrones de variación genética en cuatro subespecies de venado cola blanca del noreste de México. *Agrociencia*. **41**:13-21.
- Mackie, R. J., J. G. Kie, D. F. Pac y K. L. Hamlin. 2003. Mule deer. *Odocoileus hemionus*. En: Feldhamer, G. A., B. C. Thompson y J. A. Chapman (editores). *Wild Mammals of North America. Biology, Management and Conservation*. 2° edición, Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland, USA, 889-905 pp.
- Mandujano Rodríguez, S. 2010. Venados: animales de los dioses. Secretaría de Educación de Veracruz. México. Disponible en: http://www.sev.gob.mx/servicios/publicaciones/serie_paradocencia/venados.pdf
- Mandujano, S. 2011. Consideraciones ecológicas para el manejo del venado cola blanca en UMAs extensivas en bosques tropicales. En Sánchez, O., P. Zamorano, E. P. Recagno y H. Moya (editores). *Temas sobre conservación de vertebrados silvestres en México*. SEMARNAT-Instituto Nacional de Ecología (INE-SEMARNAT), México, pp 392.
- Martínez, J. G. 2002. La evolución y la conservación de la biodiversidad. En Soler, M. *Evolución: la base de la biología*. Proyecto sur de ediciones, 407 pp.
- Moreno Letelier, A. 2007. Tamaño efectivo de la población. En Eguiarte, L., V. Souza y X. Aguirre. (Compiladores). *Ecología molecular*. CONABIO, INE, UNAM, SEMARNAT, México, 63-80 pp.

- Orozco Jiménez, D. T. 2012. Tesis de Licenciatura. "Filogeografía y genética de la conservación del venado bura (*Odocoileus hemionus*) en México". Facultad de Ciencias, UNAM, México, 73 pp.
- Peak Scanner Software v 1.0, 2015. Applied Biosystems.
- Pérez de la Vega, M. 1997. Marcadores moleculares, variabilidad genética y evolución. 3° Simposio Científico en Biología Celular y Molecular. Universidad de Coruña. 267-276 pp. Disponible en:
http://ruc.udc.es/bitstream/2183/9868/1/CC_30_art_14.pdf
- Pritchard, J. K., M. Stephens y P. Donnelly. 2015. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*. **155**:945-959
- R Core Team (2015). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponible en:
<https://www.R-project.org/>
- Rentaría Alcántara, M. 2007. Breve revisión de los marcadores moleculares. En Eguiarte, L., V. Souza y X. Aguirre. (Compiladores). Ecología molecular. CONABIO, INE, UNAM, SEMARNAT, México, 541- 548 pp.
- Rocha, M. y J. Gasca. 2007 Ecología molecular de la conservación. En Eguiarte, L., V. Souza y X. Aguirre. (Compiladores). Ecología molecular. CONABIO, INE, UNAM. SEMARNAT, México, 251-256 pp.
- Rousset, F. 2008. Genepop v.4.0: a complete re-implementation of the GENEPOP software for windows and linux. *Molecular ecology resources*: **8**:103-106.
- Ruíz-García, M., M. Martínez-Agüero, D. Alvarez y S. Goodman. 2009. Variabilidad genética en género de ciervos neotropicales (Mammalia: Cervidae) según loci microsatelites. *Rev. Biol. Trop. (Int. J. Trop. Biol)*. **57 (3)**:879-904
- Sánchez Rojas, G. y S. Gallina Tessaro. 2008. *Odocoileus hemionus*, en: IUCN 2014 Red List of Threatened Species. Versión 2014.1. Recuperado el 7 de enero de 2016 del vínculo web: <http://api.iucnredlist.org>
- SEMARNAT. 2010. Plan de manejo tipo para Venado bura (*Odocoileus hemionus*). CONABIO. México.
- SEMARNAT. 2011. Comisión Nacional Forestal. Manual de genética de la conservación. Principios aplicados de genética para la conservación de la diversidad biológica.

- SEMARNAT-CONAFOR (Comisión Nacional Forestal). 2009. Manual técnico para beneficiarios: Manejo de vida silvestre. Primera Edición. Coordinación General de Educación y Desarrollo Tecnológico. Gerencia de Educación y Capacitación.
- SEMARNAT-NOM-059. 2010. Protección ambiental. Especies nativas de México de flora y fauna silvestres. Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio. Lista de especies en riesgo.
- Silva C. y P. Vinuesa. 2007. Genética de poblaciones y evolución en bacterias. En Eguiarte, L., V. Souza y X. Aguirre. (Compiladores). Ecología molecular. CONABIO, INE, UNAM, SEMARNAT, México, 355 pp.
- Slatkin, M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*. **139(1)**: 457-462
- Soler, M. 2002. ¿A qué nivel actúa la selección natural?. En Soler, M. Evolución: la base de la biología. Proyecto sur de ediciones. 75-78pp.
- Soler, M. 2002. Evolución: la base de la biología. Proyecto sur de ediciones. 552 pp.
- Van Oosterhout C, Hutchinson WF, Wills DPM, Shipley P. 2004. MICRO-CHECKER: Software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Mol. Ecol. Notes* 4: 535–538.
- Vázquez Lobo, A. Y. y A. E. Morales García. 2014. *Microsatélites*. Disponible en: <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/libros/710/microsatelites.pdf>
- V. Alminas, O. S. 2013. Phylogeographic inference of insular mule deer (*Odocoileus hemionus*) divergence in North America's desert southwest. Tesis profesional de maestría. Universidad de Wisconsin. Milwaukee, 88pp.
- Weber, M. y C. Galindo Leal. 2005 Venado bura. En: Ceballos, G. y G. Oliva (Coords.). Los mamíferos silvestres de México. FCE. CONABIO. Col. Sección de obras de ciencia y tecnología. México, 515-517 pp.
- Weir, B. S. y C. Clark Cockerham. 1984. Estimating F-Statistics for the Analysis of Population Structure. *Evolution* 38(6):1358-1370
- Wilson, D. E. y DA. M. Reeder. 2005. Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference. The Johns Hopkins, University Press.

12. APÉNDICES

- 1) Protocolo de extracción Chelex 5%.
- 2) Precipitación de ADN.
- 3) Condiciones de PCR. Secuencia para cada primer.
- 4) Condiciones de termociclador para cada microsatélite.
- 5) Frecuencias alélicas para estado y UMAs.
- 6) Relación de parentesco entre individuos.
- 7) Microsatélites montados con problemas en la amplificación o monomórficos.

ANEXO 1. PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN CHELEX 5%

* Recomendable usar de 15-20 pelos por extracción, no obstante pueden usarse menos (hasta 1)

- 1) Cortar el pelo lo más cercano posible a la raíz, de preferencia no dejar más de 5 mm de pelo.
- 2) Colocar las raíces en un tubo con 100µL de solución Chelex al 5% (g/mL).
- 3) Agregar 15µL de proteinasa K (pK) a 10mg/mL.
- 4) Agregar 5µL de solución de DTT 0.5M.
- 5) Incubar a 61° por 4 hrs (o más) con agitación periódica (1 min a 1,000 r.p.m. cada 5 minutos).
- 6) Verificar que la solución no contenga solidos visibles, de lo contrario agregar más pK e incubar hasta que el pelo se disuelva por completo.
- 7) Incubar a 95° por 10 minutos, agitación periódica suave (500 r.p.m.) cada 2 minutos
- 8) Colocar en hielo durante 10 minutos.
- 9) Centrifugar por 3 minutos a 10,000 r.p.m.
- 10) Tomar el sobrenadante cuidando de no tocar el precipitado y colocar en un tubo nuevo.

NOTA: la resina Chelex inhibe la reacción de PCR, en caso de haberla tomado accidentalmente, regresar el sobrenadante y repetir el paso 9

ANEXO 2. PRECIPITACION DE ADN

- 1) Agregar 7 μ L de EDTA 125mM (pH 8.4).
- 2) Agregar 7 μ L de NaOAc 3mM (pH 5.2).
- 3) Añadir 180 μ L de Alcohol al 100% (filtrado).
- 4) Vortex e incubar a temperatura ambiente por 15 minutos.
- 5) Centrifugar a 14,000 r.p.m. por 15 minutos.
- 6) Desechar el alcohol y dejar secar. NOTA: es importante que no queden rastros de alcohol.
- 7) Resuspender en 35 μ L de H₂O ultra pura.

ANEXO 3. CONDICIONES DE PCR. SECUENCIAS PARA CADA PRIMER

Mlicrosatélite	Primers c/u	[MgCl]	Temperatura alineación	Secuencias (Fwd5'-Rev3')
MAF36	1µL	1.5mM	52°	F: CATATACCTGGGAGGATGCATTACG
				R: TTGCAAAAGTTGGACACAATTGAGC
MAF48				F: TCACTAAACCAGGGGCGG
				R: GAGGCAGGCAAAATCAGAAC
BM1818	0.4µL	3mM	55°	F: AGCTGGGAATATAACCAAAGG
				R: AGTGCTTTCAAGGTCCATGC
BM2113	1µL		50°	F: GCTGCCTTCTACCAAATACCC
				R: CTTCTGAGAGAAGCAACACC
AGLA293	0.2µL	1mM	56°	F: GAAACTCAACCCAAGACAACCTCAAG
				R: ATGACTTTATTCTCCACCTAGCAGA
D16S3	0.2 µL	2mM	58°	F: GCTTTCAGAAATAGTTTGCATTCA
				R: ATCTTCACATGATATTACAGCAGA

ANEXO 4. CONDICIONES DE TERMOCICLADOR PARA CADA MICROSATÉLITE.

Microsatélite	Temperaturas y tiempo
MAF36	94° (5 min.) 94° (25 seg)
MAF48	Var. (30 seg) 72° (15 seg)
BM2113	72° (5 min)
BM1818	94° (5 min.) 94° (15 seg) Var. (30 seg) 72° (1 seg)
D16S3	72° (10 min)
AGLA293	94° (15 min.) 94° (45 seg) Var. (45 seg) 72° (1 min) 72° (10 min)

ANEXO 5. FRECUENCIAS ALÉLICAS PARA CADA LOCUS RESPECTO A CADA ESTADO Y CADA UMA.

Locus BM2113				
	Población	Alelos		Genes
		112	120	
UMAs	ROS	0.500	0.500	4
	PUM	0.500	0.500	20
	STA	0.500	0.500	10
	COY	0.500	0.500	38
	BAB	0.500	0.500	2
	TOR	0.500	0.500	6
	ANI	0.500	0.500	20
	RAN	0.500	0.500	18
	TEP	0.500	0.500	14
	CAN	0.500	0.500	68
Estado	BCS	0.500	0.500	24
	Chihuahua	0.500	0.500	48
	Sonora	0.500	0.500	128

AGLA293												
	Población	Alelos									Genes	
		197	201	203	205	209	211	213	215	217		221
UMAs	ROS	-	-	-	--	-	-	-	-	-	-	0
	PUM	0.250	0.700	0.050	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	20
	STA	0.000	0.500	0.250	0.000	0.000	0.000	0.000	0.125	0.125	0.000	8
	COY	0.000	0.393	0.286	0.071	0.036	0.107	0.000	0.000	0.000	0.107	28
	BAB	0.000	0.000	0.500	0.000	0.000	0.000	0.500	0.000	0.000	0.000	2
	TOR	0.000	0.000	0.333	0.000	0.000	0.000	0.000	0.667	0.000	0.000	6
	ANI	0.000	0.000	0.100	0.000	0.500	0.000	0.000	0.400	0.000	0.000	10
	RAN	0.111	0.278	0.333	0.056	0.111	0.000	0.000	0.111	0.000	0.000	18
	TEP	0.000	0.214	0.571	0.000	0.143	0.000	0.000	0.071	0.000	0.000	14
	CAN	0.000	0.394	0.227	0.076	0.106	0.076	0.076	0.045	0.000	0.000	66
Estado	BCS	0.250	0.700	0.050	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	20
	Chihuahua	0.000	0.417	0.278	0.056	0.028	0.083	0.000	0.028	0.028	0.083	36
	Sonora	0.017	0.293	0.284	0.052	0.138	0.043	0.052	0.121	0.000	0.000	116

BM1818								
	Población	Alelos						Genes
		241	245	247	249	251	255	
UMAs	ROS	0.000	0.000	0.500	0.500	0.000	0.000	2
	PUM	0.000	0.400	0.100	0.400	0.100	0.000	20
	STA	0.000	0.375	0.500	0.125	0.000	0.000	8
	COY	0.000	0.333	0.625	0.000	0.000	0.042	24
	BAB	-	-	-	-	-	-	0
	TOR	0.000	0.167	0.333	0.000	0.500	0.000	6
	ANI	0.000	0.286	0.357	0.286	0.071	0.000	14
	RAN	0.000	0.375	0.500	0.125	0.000	0.000	8
	TEP	0.000	0.333	0.667	0.000	0.000	0.000	12
	CAN	0.018	0.482	0.321	0.036	0.143	0.000	56
Estado	BCS	0.000	0.364	0.136	0.409	0.091	0.000	22
	Chihuahua	0.000	0.344	0.594	0.031	0.000	0.031	32
	Sonora	0.010	0.406	0.385	0.073	0.125	0.000	96

D16S3										
	Población	Alelos							Genes	
		179	181	183	185	187	189	191		193
UMAs	ROS	-	-	-	--	-	-	-	-	0
	PUM	0.000	0.000	0.400	0.450	0.150	0.000	0.000	0.000	20
	STA	0.200	0.000	0.200	0.200	0.300	0.100	0.000	0.000	10
	COY	0.333	0.042	0.00	0.167	0.417	0.042	0.000	0.000	24
	BAB	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	TOR	0.167	0.000	0.167	0.500	0.000	0.000	0.167	0.000	6
	ANI	0.071	0.000	0.000	0.286	0.500	0.071	0.071	0.000	14
	RAN	0.000	0.000	0.167	0.444	0.056	0.000	0.333	0.000	18
	TEP	0.167	0.000	0.000	0.500	0.250	0.000	0.000	0.083	12
	CAN	0.100	0.033	0.133	0.433	0.167	0.017	0.083	0.033	60
Estado	BCS	0.000	0.000	0.400	0.450	0.150	0.000	0.000	0.000	20
	Chihuahua	0.294	0.029	0.059	0.176	0.382	0.059	0.000	0.000	34
	Sonora	0.091	0.018	0.109	0.427	0.191	0.018	0.118	0.027	110

Locus MAF36				
	Población	Alelos		Genes
		108	110	
UMAs	ROS	0.500	0.500	4
	PUM	0.500	0.500	20
	STA	0.500	0.500	10
	COY	0.500	0.500	40
	BAB	0.500	0.500	2
	TOR	0.500	0.500	6
	ANI	0.500	0.500	22
	RAN	0.500	0.500	20
	TEP	0.500	0.500	14
	CAN	0.500	0.500	78
	BCS	0.500	0.500	24
Estado	Chihuahua	0.500	0.500	50
	Sonora	0.500	0.500	142

MAF48						
	Población	Alelos				Genes
		157	159	167	169	
UMAs	ROS	0.000	0.500	0.250	0.250	4
	PUM	0.450	0.100	0.300	0.150	20
	STA	0.200	0.200	0.300	0.300	10
	COY	0.600	0.075	0.225	0.100	40
	BAB	0.000	0.000	1.000	0.000	2
	TOR	0.667	0.000	0.333	0.000	6
	ANI	0.318	0.318	0.182	0.182	22
	RAN	0.444	0.000	0.333	0.222	18
	TEP	0.143	0.429	0.214	0.214	14
	CAN	0.105	0.316	0.342	0.211	76
	BCS	0.375	0.289	0.355	0.350	24
Estado	Chihuahua	0.520	0.100	0.240	0.140	50
	Sonora	0.210	0.254	0.319	0.217	138

ANEXO 6. RELACIÓN DE PARENTESCO (U: UNRELATED, FS: FULL SIBS, HS: HALF SIBS, PO: PARENT/OFFPRING) PARA CADA ESTADO.

• BCS

	R64	R66	P67	P68	P69	P70	P71	P72	P73	P90	P91	P92
R64	-											
R66	U	-										
P67	U	U	-									
P68	U	U	U	-								
P69	HS	U	PO	PO	-							
P70	U	U	PO	U	PO	-						
P71	U	U	PO	PO	PO	U	-					
P72	U	FS	U	U	U	U	U	-				
P73	HS	U	U	U	U	U	U	U	-			
P90	HS	U	U	U	U	U	U	HS	FS	-		
P91	FS	U	U	U	PO	U	U	U	U	U	-	
P92	U	U	HS	U	PO	U	U	U	U	U	FS	-

• CHIHUAHUA

	S02	S06	S07	S85	S86	C93	C94	C95	C96	C97	C98	C99	C100	C101	C102	C103	C104	C105	C106	C107	C108	C109	C110	C111	C112
S02	-																								
S06	U	-																							
S07	U	U	-																						
S85	U	U	U	-																					
S86	HS	U	U	HS	-																				
C93	FS	U	U	U	U	-																			
C94	U	HS	U	U	U	U	-																		
C95	PO	U	PO	PO	U	U	U	-																	
C96	PO	U	PO	U	U	U	U	FS	-																
C97	U	U	U	PO	PO	U	U	U	U	-															
C98	FS	U	U	U	U	U	PO	PO	U	U	-														
C99	FS	U	U	U	U	U	PO	PO	U	U	FS	-													
C100	FS	U	U	U	U	FS	U	U	U	U	FS	FS	-												
C101	FS	U	U	U	HS	FS	PO	PO	U	PO	FS	U	FS	-											
C102	FS	U	U	U	U	FS	U	U	U	U	FS	FS	FS	FS	-										
C103	PO	U	U	U	U	FS	U	FS	FS	U	PO	PO	FS	PO	FS	-									
C104	PO	U	U	U	U	PO	U	FS	PO	U	PO	PO	FS	U	FS	FS	-								
C105	U	U	U	U	U	FS	U	PO	PO	U	U	U	FS	U	FS	PO	PO	-							
C106	U	U	U	U	U	FS	U	U	U	PO	U	U	FS	HS	FS	PO	HS	PO	-						
C107	U	FS	U	U	U	U	HS	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U	-					
C108	U	U	FS	U	U	U	U	PO	U	U	U	U	U	FS	U	U	U	U	U	U	-				
C109	U	U	FS	PO	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U	HS	U	FS	-			
C110	U	U	U	FS	U	U	HS	U	U	PO	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U	PO	U	-		
C111	U	U	U	FS	HS	U	U	PO	U	PO	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U	PO	FS	-	
C112	U	U	U	FS	U	U	U	U	U	PO	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U	U	PO	U	FS	-

• SONORA

	No. U	No. HS	No. FS	No. PO		No. U	No. HS	No. FS	No. PO		No. U	No. HS	No. FS	No. PO		No. U	No. HS	No. FS	No. PO
B87	47	2	9	12	R10	40	5	13	12	CN19	50	8	9	3	CN37	32	0	24	14
T84	54	7	8	1	R11	52	6	9	3	CN20	47	5	2	16	CN38	53	1	9	7
T88	52	4	8	6	R12	53	0	16	1	CN21	48	3	3	16	CN39	41	0	18	11
T89	53	10	5	2	R13	50	5	8	7	CN22	56	9	3	2	CN40	44	4	10	12
A62	56	5	5	4	R14	48	4	6	12	CN23	56	7	4	3	CN41	46	6	10	8
A63	56	6	1	7	R15	40	0	0	21	CN24	54	8	5	3	CN42	53	3	6	8
A74	55	0	12	3	R16	55	7	7	1	CN25	54	7	8	1	CN43	41	4	11	14
A75	55	0	12	3	T55	53	3	9	5	CN26	56	7	4	3	CN44	42	0	21	7
A76	51	0	14	5	T56	44	3	15	8	CN27	53	6	7	4	CN45	48	2	10	10
A77	53	1	2	14	T57	54	3	8	5	CN28	56	5	5	4	CN46	32	0	24	14
A79	42	17	2	9	T58	46	3	10	11	CN29	55	4	7	4	CN47	46	5	11	8
A80	56	4	9	1	T59	55	6	4	5	CN30	50	7	6	7	CN48	52	7	7	4
A81	56	4	9	1	T60	43	3	12	12	CN31	52	5	9	4	CN49	45	3	11	11
A82	50	8	5	7	T61	55	3	7	5	CN32	36	0	8	26	CN50	55	6	3	6
A83	44	2	11	13	CN03	49	6	1	14	CN33	41	5	10	14	CN51	52	3	7	8
R04	64	0	5	1	CN05	50	8	2	10	CN34	40	0	8	22	CN52	49	4	8	9
R08	42	0	18	10	CN17	57	5	6	2	CN35	36	0	8	26	CN53	57	6	2	5
R09	43	3	7	17	CN18	54	5	9	2	CN36	40	0	8	22					

ANEXO 7. MICROSATÉLITES MONTADOS CON PROBLEMAS EN AMPLIFICACION O MONOMÓRFICOS.

Microsatélite	Temperatura	[MgCl₂]
BM848	52°	1.5 mM
MAF209	56°	1 mM
Cervid 2	52°	1.5 mM
Cervid 3	52°	1.5 mM
OMHC1	57°	2 mM
OLADRB15	56°	2 mM
OARFCB266	58°	1 mM
OARFCB128	60°	1 mM