

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS

EVALUACION DE LA DIVERSIDAD GENETICA EN POBLACIONES DE BORREGO
CIMARRON (*Ovis canadensis cremnobates*) AL NORTE DE SIERRA JUÁREZ,
BAJA CALIFORNIA, CON MARCADORES MOLECULARES.

TESIS PROFESIONAL

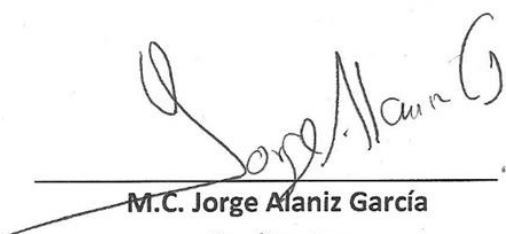
QUE PRESENTA

DIANA GABRIELA ESQUIVEL RAMIREZ

APROBADO POR



Dr. Faustino Camarena Rosales
Director de tesis



M.C. Jorge Alaniz García
Co-director



Dr. Rafael Solana Sansores
Sinodal

<i>Índice</i>	<i>Página</i>
Agradecimientos	4
Resumen/Abstract	5
Introducción	6
Antecedentes	7
Justificación	15
Objetivo	15
Área de estudio	16
Metodología	17
Resultados	19
Discusión	25
Conclusiones	29
Referencias	30



Agradecimientos

A mis papás, por todo el apoyo brindado para la realización de este proyecto y la culminación de mis estudios profesionales; pero sobre todo, por el amor incondicional que siempre he recibido. ¡MUCHAS GRACIAS!

A mi hermanita Vero, porque su sola existencia me impulsa a lograr mis metas y plantearme nuevas. Gracias por risas, abrazos, y travesuras que sólo se pueden compartir con una hermana. Eres la mejor.

Agradezco especialmente a mi director de tesis, el Dr. Faustino Camarena, por su apoyo y sabiduría transmitidos antes y durante la elaboración de este trabajo. De igual forma, a mi co-director, el M.C. Jorge Alaniz, por servir de guía a lo largo de mi carrera y agregar un toque único a las salidas de campo. Igualmente, al Dr. Rafael Solana por su confianza y apoyo brindado. ¡Muchísimas gracias!

Gracias al proyecto “Identificación de corredores de borrego cimarrón (*Ovis canadensis*) en Sierra Juárez”; ya que, de no haberse realizado, no habría tenido la oportunidad de superarme a mí misma. Así mismo, estoy en deuda con el personal del Instituto de Investigación para la Conservación del Zoológico de San Diego, quien me recibió con sus puertas abiertas y me brindó la oportunidad de aprender nuevas técnicas de Biología Molecular. ¡Thank you very much!

A mis tíos y primos –tanto maternos como paternos- porque aunque sea desde lejos, siempre han encontrado la forma de estar cerca de mí y mi familia. Gracias por sus consejos, cariño y tantos momentos felices.

A mis tíos, Gloria y Alejandro, ya que siempre han estado presentes en cada etapa de mi vida; apoyándome y cuidándome como si lleváramos la misma sangre.

A mis amigos, pues afortunadamente en cada etapa académica, he construido lazos que soportan distancia y tiempo. Así como a aquellos amigos/vecinos que conozco desde siempre y he llegado a llamarles familia.

Gracias futuro M.C. Carlos Rangel, por ayudarme durante el procesamiento de muestras y el análisis de los resultados.

Agradezco también a los biólogos Gregorio Maldonado y Ramiro Santos, por apoyarme en la recolecta de muestras en campo. ¡Ánimo equipo borreguero!

También agradezco a la Universidad Autónoma de Baja California y a la Facultad de Ciencias, por proporcionarme el espacio, los equipos y reactivos necesarios para el desarrollo de esta Tesis.

Pero sobre todo, gracias al Biólogo Naim Martínez; a quien afortunadamente también puedo llamar novio, amante y compañero de vida. Gracias por tus consejos, críticas y conocimientos compartidos; por tu apoyo incondicional y tu empuje para lograr cualquier objetivo que me proponga.

¡MUCHÍSIMAS GRACIAS A TODOS!



Resumen

La diversidad genética de una población de borrego cimarrón (*Ovis canadensis*) al norte de Sierra Juárez, Baja California, México, se evaluó utilizando la región control del ADN mitocondrial de 14 muestras recolectadas en dicha zona. Se encontraron 5 haplotipos diferentes (Oc01, Oc02, Oc05, Oc08 y Oc09). Posteriormente, se compararon con lo registrado en GENE BANK, donde se identificaron 3 haplotipos únicos y dos homólogos. Oc02 igual que HAP2 y Oc08 equivalente a HAP7. HAP2 y HAP7 fueron reportadas por Boyce *et al.*, (1999) para poblaciones al suroeste del estado de California, Estados Unidos.

Abstract

The genetic diversity of a population of bighorn sheep (*Ovis canadensis*) at north of Sierra Juárez was evaluated. For this purpose, we used the control region of the mitochondrial DNA of 14 samples collected in that area. Five different haplotypes (Oc01, Oco2, Oc05, Oc08 and Oc09) were found. Subsequently, they were compared with the information available at GENE BANK, where three unique haplotypes were identified and two were homologous. Oc02 was identically as HAP2, while Oc08 and HAP7 were the same. HAP2 and HAP7 were reported by Boyce *et al.*, (1999) for populations at southwestern California, United States.



Introducción

El borrego cimarrón (*Ovis canadensis*) es una de las especies más emblemáticas del estado de Baja California debido a su aprovechamiento cinegético y su importancia ecológica dentro de los ecosistemas desérticos al noroeste del país. Actualmente se reconocen siete subespecies de borrego cimarrón: *O. c. californiana*, *O. c. auduboni*, *O. c. canadensis*, *O. c. nelsoni*, *O. c. mexicana*, *O. c. weemsi* y *O. c. cremnobates*. Aunque sólo las tres últimas se distribuyen en México (SEMARNAT, 2000).

Esta especie es de gran importancia cinegética para el país y representa una importante derrama económica para las comunidades donde habita (Aguilar, 1999; en Galindo, 2000). Debido a este gran interés, en algunos ranchos del noroeste de México se han establecido criaderos para su conservación y aprovechamiento, las poblaciones frecuentemente son pequeñas y cerradas. Estas condiciones pueden generar una disminución de la diversidad alélica y la variabilidad genética en la progenie (Fitzsimmons et al., 1997; Conde, 2000; en Abad, 2006); aspecto que puede tener serios efectos sobre la salud y viabilidad de las poblaciones.

La zona fronteriza, al norte de Sierra Juárez se está viendo fuertemente impactada por factores antropogénicos. La construcción de generadores eólicos, así como la frontera misma y las carreteras, pueden estar limitando la migración entre las poblaciones de borrego cimarrón al sur de California y norte de Baja California.

Sobre estas poblaciones se han realizado distintos estudios, la mayoría están relacionados con la biología y ecología de la especie. Sin embargo, en cuanto a aspectos genéticos, gran parte de los trabajos están enfocados en otros grupos de Estados Unidos. Por lo que se desconoce la situación actual, en cuanto diversidad genética se refiere, de las poblaciones al norte de Sierra Juárez.

Este trabajo pretende ser un primer acercamiento al estado en que se encuentran las poblaciones de dicha zona, evaluando el ADN mitocondrial y comparándolo con lo reportado. Ya que conocer la variabilidad genética, permite desarrollar mejores planes de manejo y conservación para la especie.



Antecedentes

El borrego cimarrón es originario de Asia y migró hacia América cruzando el estrecho de Bering durante las glaciaciones del Pleistoceno, hace 85,000 años aproximadamente. Donde fueron dispersándose, hasta llegar a Baja California hace aproximadamente 12,000 años (Lee, 1989). Mismo autor refiere que el número máximo de ejemplares fue de 2 millones; mientras que actualmente se estima una población de 25,000 organismos, de los cuales, 6,000 se localizan en México.

De manera coloquial, se distinguen dos variedades de borrego cimarrón: el borrego de montaña y el borrego del desierto. Sin embargo, con base en su distribución geográfica y su morfología, se reconocen 7 subespecies; de las cuales, 3 son de montaña y 4 son de desierto. La principal distinción, está basada en el tamaño del organismo y sus cuernos, así como la coloración del pelaje. No obstante, se han realizado estudios genéticos recientes que parecen cuestionar el estatus taxonómico actual de las subespecies (Boyce, *et al.*, 1997).

Para México, sólo se pueden encontrar 3 subespecies, teniendo como límite de distribución de la subespecie *O. c. cremnobates*, la frontera con Estados Unidos (Figura 1). Cabe señalar, que la subespecie *O. C. auduboni*, se considera extinta.



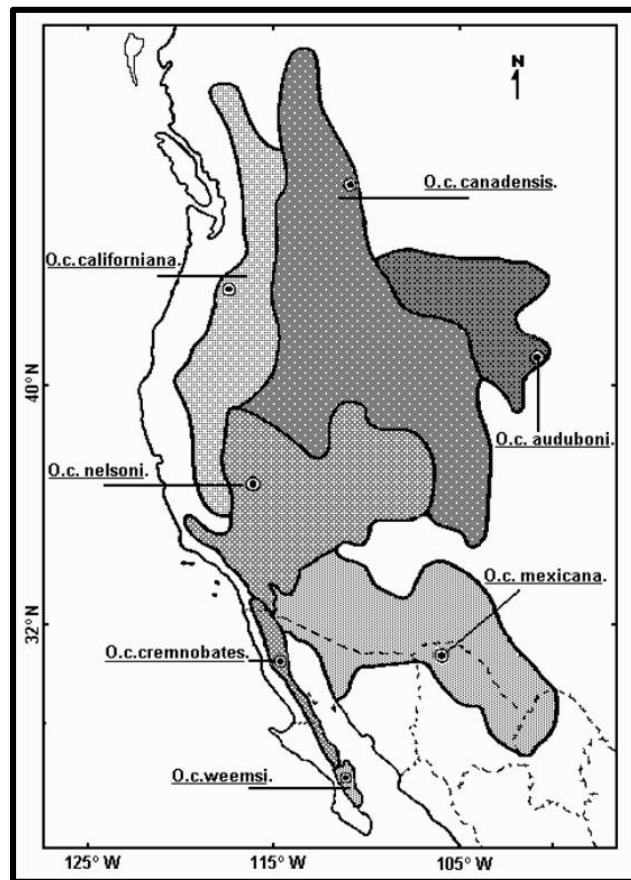


Figura 1.- Distribución histórica de las subespecies de borrego cimarrón en Norteamérica (SEMARNAT, 2000).

Clasificación taxonómica de la especie

Clase Mammalia

Orden Cetartiodactyla

Familia Bovidae

Género *Ovis*

Especie *Ovis canadensis* (Shaw, 1804)

Subespecies en México *O. c. cremnobates* (Elliot, 1903)

O. c. weemsi (Goldman, 1937)

O. c. mexicana (Merriam, 1901)



Descripción de la especie

Con base en Berger (1982), la característica principal que distingue a esta especie, son sus largos cuernos recurvados hacia atrás, que en los machos alcanza de 70 a 100 cm rodeando las orejas y llegando hasta los ojos. En conjunto con la cornamenta, pueden pesar alrededor de 20 kg. Los machos adultos pesan entre 70 y 90 kg y miden de 76 a 100 cm de altura hasta los hombros y 150 cm de longitud. Alcanzan la madurez sexual a los ocho años de edad aproximadamente.

El borrego cimarrón presenta un marcado dimorfismo sexual que se observa en la cornamenta. Misma que ha sido resultado de un largo proceso de selección sexual, ya que juega un papel muy importante en la competencia entre machos por las hembras (Berger, 1982). Los cuernos de las hembras son mucho más pequeños y sólo alcanza un peso promedio de 50 kg (Smith y Krausman, 1988). Contrario a los machos, las hembras llegan a la madurez reproductiva entre el primero y el segundo año de vida.

En ambos sexos los organismos presentan un cuerpo robusto con patas fuertes que les permiten desplazarse en terrenos rocosos y escabrosos. La parte posterior del animal es de coloración marrón claro a oscuro; en tanto que las partes inferiores pueden variar de blanco cremoso a gris oscuro y marrón. Poseen una excelente visión y siempre están alerta ante los depredadores (Nowak, 1991).

Ecología de la especie

El hábitat donde se desenvuelve esta especie, es rocoso y agreste al noroeste de Baja California. Aunque no se tienen registros exactos de la superficie de hábitat ocupada, existen evidencias directas e indirectas de que se distribuye en las Sierras de Cucapá, Juárez, Las Tinajas, Las Pintas, San Pedro Mártir, San Felipe, Santa Isabel, Las Arrastras, Calamajué, La Asamblea, San Borja, Las Animas, Agua de Soda y la Sierra de San Juan (Gobierno del Estado de Baja California, 2012).

En relación con sus hábitos migratorios, esta especie lleva a cabo movimientos altitudinales estacionales; distribuyéndose en regiones altas y ocupando un área mayor durante el verano y concentrándose en valles protegidos durante las estaciones frías. Este comportamiento está dado principalmente, por la disponibilidad de alimento y agua (op. cit.).

En 1991, Nowak refiere que su comportamiento social consiste en grupos de hembras emparentadas que alimentan y cuidan a las crías. Cuando los machos juveniles alcanzan de 2 a 4 años son expulsados para unirse a otros grupos de machos. En estos últimos, existe una jerarquía



de dominancia basada principalmente, en la edad y tamaño de la cornamenta. Por lo que las batallas entre machos son frecuentes y se incrementan en las temporadas de reproducción; que van de julio a diciembre.

El periodo de gestación es de aproximadamente 175 a 180 días, dando a luz generalmente a una sola cría. Los neonatos pesan alrededor de 4 kg y son amamantados por 4 o 6 meses. Generalmente siguen y permanecen junto con la madre durante el primer año de vida. Durante los primeros 6 meses de vida, se presenta el periodo con mayor mortandad. En tanto que el promedio de vida de manera natural, es de 10 a 12 años (Lee, 1998).

El borrego cimarrón es un animal herbívoro que ingiere distintas plantas con base en la disponibilidad del alimento. Se han realizado distintos estudios sobre la dieta de esta especie (Sánchez, 1978; Krausman *et al.*, 1989), considerándolo como un forrajero oportunista. Se alimenta desde gramíneas, arbustos como *Simmondsia chinensis* y *Ephedra sp.* y herbáceas.

Por otro lado, Galindo (2000) realiza un estudio en la sierra de San Pedro Mártir, donde señala que las especies que conforman principalmente la dieta son: *Ephedra nevadensis*, *Ditaxis lanceolata*, *Pinus jeffreyi*, *Eriodictyon angustifolium* y *Bromus ciliatus*. No obstante, se han realizado observaciones al norte de Sierra Juárez, que indican una ingesta importante de cactáceas como las biznagas (Santos, 2014).

Contexto histórico en México y Baja california

La declinación de las poblaciones de borrego cimarrón, se ha atribuido de manera histórica a la cacería furtiva y a un inadecuado manejo, por lo que el implemento de vedas, se ha visto presente desde inicios del siglo pasado. Una de las primeras vedas fue decretada en 1917, para la subespecie *O. c. cremnobates*, por el entonces gobernador de Baja California, Eliseo Cantú. Misma que fue secundada a nivel nacional en 1922 por el General Álvaro Obregón; y que duró alrededor de 40 años (Gobierno del Estado de Baja California, 2012).

En 1959, se llevó a cabo la primera estimación poblacional en México. Encabezada por Bernardo Villa, se calculó que para toda la península de Baja California, se distribuían 2,000 ejemplares. Mientras que para 1974, la estimación poblacional alcanzó de 4,500 a 7,800 individuos (Álvarez, 1976).



El Gobierno del Estado de Baja California (2012), señala que a finales de 1963, la Dirección General de Caza, abrió una temporada experimental de cacería en la Península de Baja California. De igual forma, se llevaron a cabo importantes investigaciones orientadas a la situación poblacional del borrego cimarrón.

Con base en SEMARNAT (2000), en 1991, México se suscribe a la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Flora y Fauna Silvestres (CITES), para beneficio de la especie. Para 1993, la Dirección General de Aprovechamiento Ecológico de los Recursos Naturales (DGAERN), suspende la actividad cinegética de las temporadas 93-94 y 94-95; de manera que la especie fue considerada en la entonces NOM-059ECOL-1994.

En fechas recientes, y con implementación tecnológica, se han realizado distintos censos aéreos que, en conjunto, permiten estimar una población total de 2,000 organismos (SEMARNAT, 2000). De igual forma, se sigue considerando la veda de la última temporada (1990-1991) para el aprovechamiento de *O. c. cremnobates*, prohibiendo estrictamente la caza, captura, transporte, posesión y/o comercio (Gobierno del estado de Baja California, 2012).

Además, en 2002, se exhortó al Gobierno federal para establecer una veda total y por tiempo indefinido a dicha especie, hasta que los estudios señalen una notable recuperación poblacional y quedé fuera de riesgo de extinción (Gaceta Parlamentaria, 2002).

Actualmente, la especie está sujeta a “Protección Especial” (PR) de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 y está enlistada en el Apéndice II de la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora (CITES) (SEMARNAT, 2013). A su vez, se encuentra en la categoría de Preocupación Menor (LC) en la Lista Roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) (Festa-Bianchet, 2008).

Conservación

De acuerdo con SEMARNAT (2000), para llevar a cabo cualquier programa de conservación, se requiere de un trabajo multidisciplinario, planificado, organizado y que considere metas a largo plazo. Teniendo como elemento principal, la modificación, a través de la educación y la generación de incentivos, la percepción e interacción de la sociedad con la vida silvestre.

De igual forma, el manejo y aprovechamiento de las especies silvestres, ya sea de fauna o flora, deben sustentarse en información de sus poblaciones; además los programas de manejo tienen que



diseñarse con base en información científica, tanto de la especie como el hábitat en el que se desenvuelve (Mandujano, 1994).

Así mismo, Pezoa (2001) menciona que cualquier estrategia de conservación debe planificarse en función de los planes de desarrollo social y de utilización sostenible para cada área en particular; de esta forma se podrá conseguir e implementar estrategias efectivas de conservación de la biodiversidad.

En México se han llevado a cabo distintos proyectos de conservación para esta especie, como lo es el “Proyecto para la Conservación, Manejo y Aprovechamiento sustentable del borrego cimarrón (*Ovis canadensis*) en México”. Formando parte del “Programa de Conservación de la Vida Silvestre y Diversificación Productiva en el Sector Rural 1997-2000”.

A nivel estatal, se ha desarrollado la “Estrategia Estatal para la Conservación y Manejo sustentable del borrego cimarrón (*Ovis canadensis cremnobates*) en Baja California; que tiene como fin último la conservación de la especie a través de un manejo sustentable que impida la cacería furtiva, la competencia y eventual sustitución del hábitat de borrego, y por consiguiente la pérdida de la biodiversidad (Gobierno del Estado de Baja California, 2012).

No obstante, se desconocen muchos de los procesos relacionados con la biología de y dinámica poblacional del borrego cimarrón. Por esto, se considera importante continuar con la investigación relacionada con los aspectos biológicos de la subespecie *O. c. cremnobates*; como la caracterización del hábitat y la determinación de sus elementos estructurales (Gobierno del Estado de Baja California, 2012).

Si bien, en el estado de Baja California se han llevado a cabo distintos estudios sobre el borrego cimarrón (Eaton, 2002; Galindo, 2000; Ayala, 2003; González, 2006; Escobar, 2008), la mayoría de ellos tienen como enfoque la alimentación y ecología de la especie. Son casi nulos los trabajos enfocados en la ecología molecular y filogeografía de las poblaciones que se han llevado a cabo a nivel local.



Ecología molecular

La Ecología molecular es una ciencia relativamente nueva que se desarrolló a mitad de la década de los 80's. Que involucra e integra distintas disciplinas y áreas de estudio como la genética evolutiva y de poblaciones, ecología del comportamiento, biología de la conservación, genética de la conservación y biología molecular (Beebee y Rowe, 2006).

Uno de los objetivos de esta ciencia es describir y en su caso proponer estrategias para la solución de los problemas genéticos que enfrentan las poblaciones silvestres. Existen diversos ejemplos donde los factores genéticos influyen en la disminución poblacional; tales como poblaciones de panteras de Florida (*Puma concolor*), pericos de Puerto Rico (*Amazona vittata*), borrego cimarrón (*Ovis canadensis*), entre otros. La pérdida de variabilidad genética y la depresión por endogamia son dos de las principales causas en la disminución y viabilidad poblacional (Rocha y Gasca, 2007).

Por ejemplo, en el caso del borrego cimarrón, Beebee y Rowe (2008), reportan una correlación positiva entre la heterocigosidad y el tamaño poblacional, al momento de comparar estimaciones sobre el tamaño efectivo de la población con marcadores polimórficos.

Frente a esta problemática, gracias al desarrollo de la ciencia y la tecnología, hoy en día contamos con nuevas herramientas de estudio como los marcadores moleculares. Estos se han vuelto necesarios para distintos campos de la Biología, tales como evolución, ecología, bio-medicina, ciencias forenses y estudios de diversidad. Actualmente se utilizan para localizar y aislar genes de cierto interés; aunque se clasifican de acuerdo a su capacidad de detectar polimorfismos en loci únicos o múltiples, de tipo dominante o co-dominante (Rentarías, 2007)

Entre las diversas aplicaciones del análisis con marcadores moleculares, resalta la filogeografía; la cual, se puede entender como el conocimiento y aplicación de marcadores genéticos y moleculares para explorar preguntas y problemas en ecología molecular y evolución (Vázquez, 2007). Existen diferentes características que idealmente debería tener una molécula para análisis filogenéticos, y dichas propiedades se pueden encontrar en el ADN mitocondrial de los animales superiores (Avice et al., 1987).

Dicha molécula es circular y covalentemente cerrada; de tamaño pequeño (16-20 kilobases), conformada por un total de 37 genes (13 ARN mensajeros, 2 ARN ribosomales y 22 ARN de transferencia), además de una región control (1kb), que controla la replicación y transcripción de la



molécula. Presenta una alta tasa de sustitución a nivel de secuencias de nucleótidos y prácticamente nula recombinación, gran variación intraespecífica y sobre todo, su herencia casi estrictamente materna (Vázquez, 2007).

Las variantes o haplotipos del ADN mitocondrial, registran la historia matrilineal de eventos mutacionales, que pueden conectarse mediante un filograma. Este a su vez, puede sobreponerse a la distribución geográfica del grupo de estudio, a fin de interpretar los procesos evolutivos responsables de la distribución actual de la muestra a estudiar (Avice, 2000).

De acuerdo con Fisher (1930), la tasa de cambio evolutivo en una población es proporcional a la cantidad de diversidad genética disponible (Teorema Fundamental de la Selección Natural). Si la diversidad genética se ve reducida dentro de una población, entonces se reduce también el potencial evolutivo de la misma ante los cambios del medio ambiente (Abad, J. 2006).

Ecología molecular aplicada a Ovis canadensis

En México se han realizado pocos estudios acerca del borrego cimarrón, y en cuanto a análisis genéticos se refiere, estos son prácticamente nulos; aunque existen algunos estudios genéticos que se han enfocado en la subespecie *O. c. mexicana* (Abad, J. *et al.*, 2011).

En 1999, Boyce *et al.*, reportaron 7 haplotipos distintos para nueve poblaciones muestreadas al suroeste del estado de California, con un total de 128 individuos. De igual forma, Epps *et al.*, (2005) registra 18 haplotipos nuevos en 27 poblaciones ubicadas al sur del mismo estado. En este último trabajo se contó con un total de 394 individuos.

Finalmente, dada la condición fronteriza de nuestra zona, de acuerdo con Flesch, *et al.*, (2009) infraestructuras de seguridad a lo largo de fronteras internacionales, amenazan con degradar la conectividad de las poblaciones de vida silvestre. Estudios diversos (Cohn, 2007; Flesch, *et al.*, 2009) sugieren que la construcción de una barda impermeable podría romper la conexión entre extensas poblaciones de borrego cimarrón. Así como reducir la probabilidad de recolonización después de una extinción local. Como sucede en todos los límites fronterizos, el incremento en la preocupación sobre la seguridad nacional y el paso de inmigrantes complican temas como la conservación y conectividad de los diversos ecosistemas y su fauna (Flesch, *et al.*, 2009).



Justificación

El conocimiento de la diversidad genética, así como la filogenia de las poblaciones de borregos cimarrones, contribuirá a un mejor diseño de estrategias de conservación y manejo de vida silvestre. Aumentar el éxito en la aplicación de programas de conservación permitirá mantener la diversidad y viabilidad de las poblaciones de esta especie, considerando la condición fronteriza de esta zona como una barrera potencial para el flujo de genes.

Objetivo

❖ General

Este trabajo tiene por objetivo evaluar una secuencia de la región control del ADN mitocondrial como indicador de la diversidad genética, así como de las relaciones filogeográficas entre las poblaciones de *Ovis canadensis cremnobates*, a partir de muestras recolectadas al norte de la Sierra Juárez, en Baja California, y compararlas con lo reportado en GENE BANK.

❖ Particulares

- Determinar la diversidad genética mitocondrial en muestras de las poblaciones al norte de la Sierra Juárez, en Baja California.
- Determinar el número de haplotipos diferentes.
- Comparar los haplotipos encontrados con lo reportado en GENE BANK.



Área de estudio

La Sierra de Juárez (Figura 2) se encuentra ubicada aproximadamente 100 kilómetros tierra adentro, al norte del Estado de Baja California; entre los 31°19'12'' y 32°35'24'' de latitud Norte y de 115°24'00'' a 116°19'12'' de longitud Oeste. En conjunto con la Sierra de San Pedro Mártir, estas dos unidades morfoestructurales, conforman el Sistema Montañoso de la Península de Baja California (Peinado, *et al.*, 1994). La temperatura promedio anual circula de los 15°C en el complejo La Rumorosa, a los 11° en el Parque Nacional Constitución 1856 en Sierra Juárez. Con temperaturas máximas absolutas de 42°C y mínimas absolutas de -19°C, el promedio de precipitación anual va de 134 mm en La Rumorosa a 384.6 mm en el poblado El Aserradero (Domínguez, 2009).

El área de estudio es de gran importancia como corredor biológico entre las poblaciones de borrego en México y Estados Unidos, ya que en esta parte de la frontera todavía no existe una barrera física importante. No obstante, la construcción de generadores eólicos y el desarrollo urbano, pueden estar limitando el paso de los animales; lo que conduce a la formación de poblaciones con un bajo flujo genético.



Figura 2.- Se muestra el polígono a estudiar al norte de Sierra Juárez.



Metodología

Métodos de campo

Se obtuvo muestras de sangre fresca de 14 borregos capturados para el proyecto de telemetría “Identificación de corredores de borrego cimarrón (*Ovis canadensis*) en Sierra Juárez”. La captura tuvo lugar el 31 de Octubre y 1 de Noviembre de 2013; los puntos de captura de cada borrego se presentan en la Figura 3. Se debe señalar que algunos borregos fueron capturados en el mismo punto geográfico.

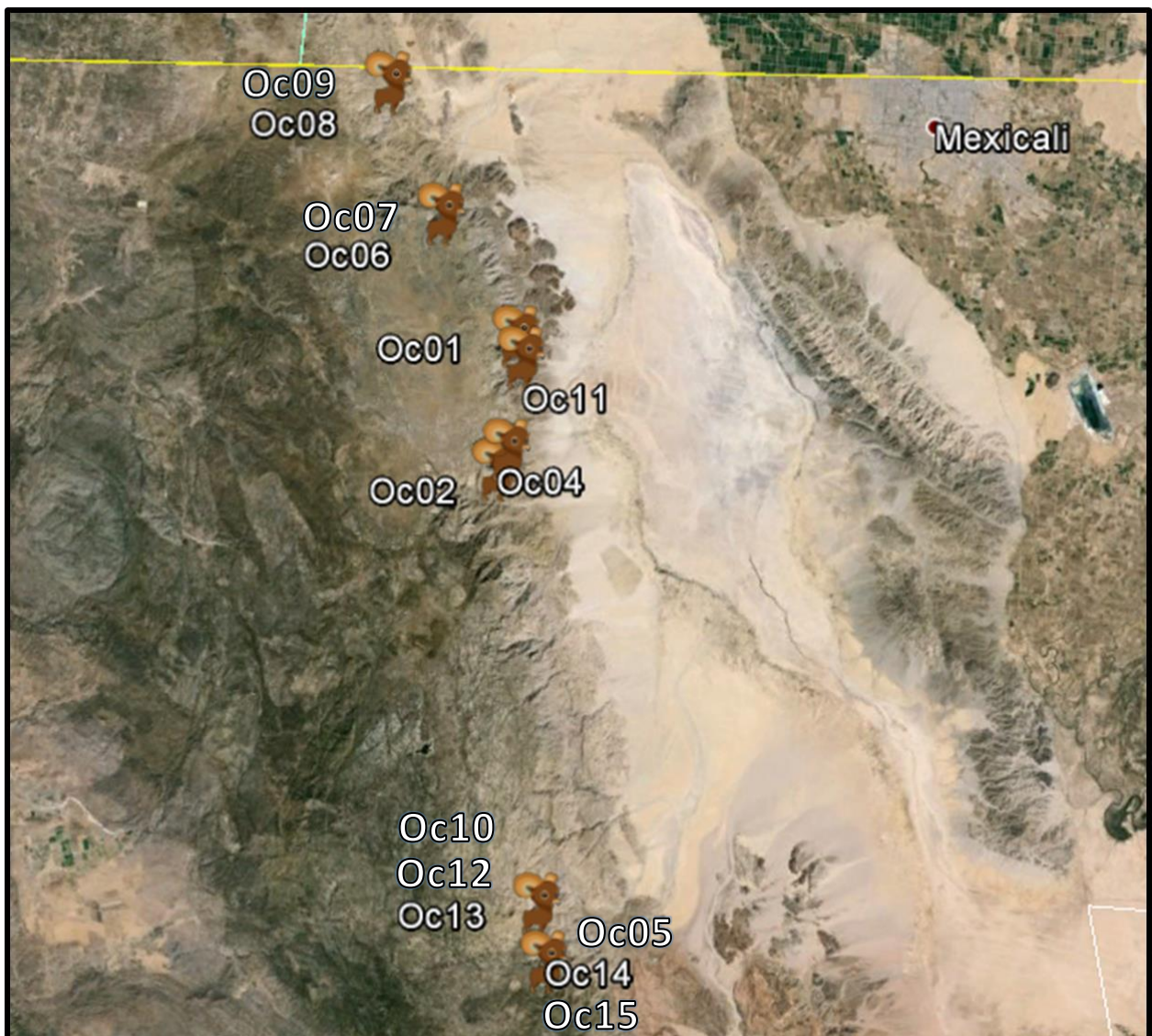


Figura 3.- Puntos de captura de los organismos.



La sangre fue extraída en un campamento provisional en el Rancho Picachos en Mexicali, Baja California. Las muestras fueron transportadas en tubos eppendorf de 1.5 ml bajo hielo; ya en el laboratorio, fueron almacenadas a -80°C.

Métodos de laboratorio

En el Laboratorio de Biología Molecular en la Universidad Autónoma de Baja California, se realizó la extracción de ADN con base en el protocolo de Fenol-Cloroformo. El ADN se cualificó y estimó su concentración mediante electroforesis en gel Agarosa a 0.8%, con bromuro de etidio y visualizado en un transiluminador UV. El ADN se almacenó a -20°C, hasta su posterior uso.

A continuación, la Región Control del ADN mitocondrial se amplificó mediante el uso de los primers BETH (5'-3' ATG GCC CTGAAG AAA GAA CC) y L15712 (5'-3' AAC CTC CCT AAG ACT CAA GG) (Epps *et al.*, 2005), mediante la técnica de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa). Las condiciones para el PCR fueron 25 µl de reacción con las siguientes condiciones: 21.75 µl de mix (DNTP's, ClMg...), 4 µl de cada primer, 1 µl de TaqPol y 1 µl de la muestra de ADN. Se utilizó un ciclo inicial de 94°C por 5 minutos, seguido de 31 ciclos a 94°C por 5 minutos, 61°C por 30 segundos y 72°C por 30 segundos. El producto final se evaluó mediante electroforesis en agarosa al 2%.

Métodos de gabinete

Para las reacciones de secuenciación se preparó el cebador L15712; y el producto del PCR, ADN purificado, se envió a SeqXcel Inc. en San Diego, California. Dicha compañía emplea nucleótidos terminadores de secuencia (BigDye® Terminador v3.1 Cycle Sequencing Kit, Applied Biosystems) y un secuenciador automático DNA ABI PRISM® 3130xl Genetic Analyzer de tecnología capilar. Los cromatogramas generados por el secuenciador se almacenaron en formato electrónico hasta su procesamiento.

Una vez obtenidas las secuencias, se realizó la revisión de cada una de las secuencias y se efectuó la eliminación de inconsistencias, especialmente de los extremos. A continuación, se utilizó el programa MEGA 6 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) para alinear las secuencias por el método de Muscle.



Se utilizó el número único de haplotipos presentes en las poblaciones como medida mediática en hembras de la diversidad genética (Epps, 2005).

Finalmente, se llevó a cabo la comparación de los haplotipos encontrados con los reportados por Boyce (1999) y Epps (2005), en GENE BANK, para determinar la diversidad entre las poblaciones y establecer la existencia de haplotipos compartidos. Las distancias genéticas se obtuvieron entre cada secuencia y se aplicó el método del vecino más cercano para la construcción de un dendograma utilizando las secuencias obtenidas y otro contemplando todas.

Resultados

En primera instancia, se compararon las secuencias de las 14 muestras del norte de Sierra Juárez que se analizaron. Se construyó un dendograma con el método del vecino más cercano para identificar aquellas secuencias que fueran iguales. En la Figura 4, se observa un total de 5 haplotipos diferentes. Además se reportan 20 sitios variables entre las 14 secuencias.

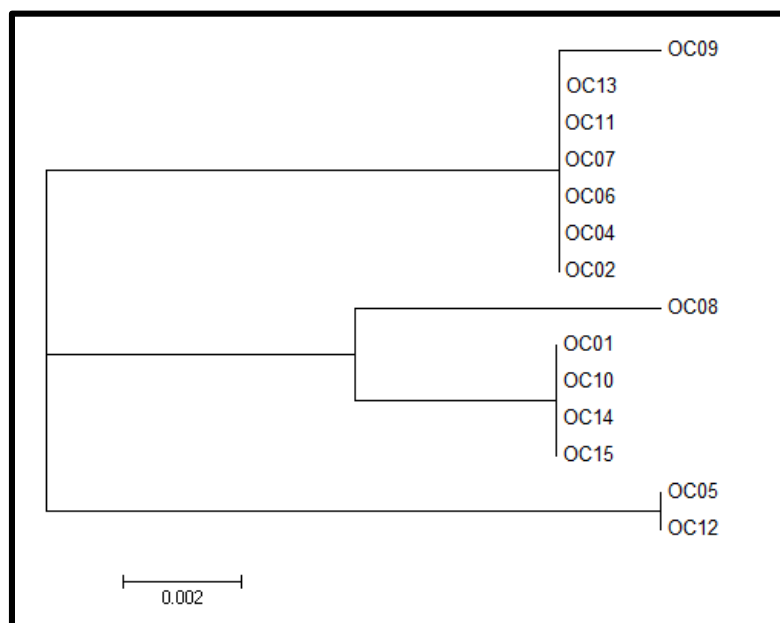


Figura 4.- Dendograma construido por el método del vecino más cercano para las secuencias de la región control de las 14 muestras de borrego cimarrón obtenidas en campo.



A continuación, se calculó la frecuencia relativa para cada haplotipo único que se encontró. Los haplotipos Oc09 y Oc08 tuvieron un valor de 0.0714 cada uno. En tanto que Oc02, Oc04, Oc06, Oc07, Oc11 y Oc13 alcanzaron un valor de 0.4285; mientras que la frecuencia relativa para Oc01, Oc10, Oc14 y Oc15 fue de 0.2857. Finalmente, Oc05 y Oc12 presentaron un valor de 0.1428.

Para los análisis siguientes, se utilizaron los haplotipos diferentes (OC01, OC05 y OC09) y la información disponible en GENE BANK, en donde se identificaron 31 secuencias homólogas. OC08 resultó homólogo a una secuencia ya registrada. OC01, OC05 y OC09 corresponden a los tres nuevos haplotipos encontrados para Sierra Juárez; mientras que HAP1-HAP7 son los reportados por Boyce (1999) con un número de identificación AF076911-AF076917.

Finalmente, HAPA-HAPX son aquellos referidos por Epps *et al.*, en 2005 (AY903993, Ay903995-Ay904017, DQ249894, JN181255, JX484768-JX484773). La alineación de las secuencias, arrojó un total de 46 sitios variables en las 34 secuencias que se analizaron. La posición de dichos sitios para cada haplotipo se presenta en la Tabla 1.



Tabla 1.- Posición de los sitios variables para cada haplotipo.

Gen	Región Control del ADN mitocondrial																																																
Primers	BETH																																																
	L15712																																																
Posición																																																	
Haplotipo	5	5	5	8	1	7	9	1	7	3	6	7	8	7	4	6	7	8	3	1	2	7	8	1	6	8	9	8	9	5	8	8	5	7	3	4	0	7	7	7	8	9	4	0	3	7	4		
OC01	A	C	A	T	-	A	A	T	G	G	G	C	C	C	T	T	G	G	G	A	C	G	G	T	C	C	T	T	T	C	A	G	G	A	C	A	C	C	C	G	T	G	C	C	A	A	G	T	
OC05	G	T	*	*	T	*	G	*	*	A	*	T	*	*	*	*	*	*	*	G	T	*	A	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	T	*	*	A	*	*	G	*	*	*
OC09	*	T	*	*	T	*	*	*	C	*	A	T	*	*	*	*	*	A	*	G	T	*	*	*	G	*	*	*	*	T	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	A	*	*	*	*	*	*	*
HAP1	*	T	*	*	T	*	*	*	*	*	A	T	*	*	*	*	*	A	*	G	T	*	*	*	G	*	*	C	*	T	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	A	*	*	*	*	*	*	*
HAP2	*	T	*	*	T	*	*	*	*	*	A	T	*	*	*	*	*	A	*	G	T	*	*	*	G	*	*	*	*	T	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	A	*	*	*	*	*	*	*
HAP3	*	T	*	*	T	*	*	*	*	*	A	T	*	*	*	*	*	A	*	G	T	*	*	*	G	*	*	*	*	T	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	A	*	A	*	*	*	*	*	
HAP4	*	T	*	*	T	*	*	*	*	*	A	T	*	*	*	*	A	A	*	G	T	*	*	*	G	*	*	*	*	T	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	A	*	*	*	*	*	*	
HAP5	*	T	*	*	T	*	*	*	*	*	*	T	*	*	*	*	*	*	*	T	*	*	*	*	T	*	*	*	T	*	*	*	*	T	*	*	*	*	*	*	*	A	*	*	*	G	*	*	
HAP6	G	T	*	*	T	*	*	C	*	*	*	T	*	*	*	*	A	*	A	G	T	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	A	*	*	*	*	*	T	*	*	A	*	*	G	*	*	*	
HAP7	*	T	*	*	T	*	*	*	*	*	*	*	*	*	C	*	*	*	*	*	T	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	A	*	T	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		
HAPA	*	T	*	C	T	G	G	*	*	*	*	*	*	*	*	*	A	*	G	T	A	*	*	*	*	*	*	*	T	*	*	A	*	*	*	*	*	*	*	A	A	T	*	*	*	*	*		
HAPB	*	T	*	*	T	*	*	*	*	*	*	T	*	*	*	*	A	A	*	G	T	*	*	*	*	T	*	*	*	*	G	*	*	*	T	*	*	*	*	*	A	A	T	*	*	*	*	*	
HAPC	*	T	*	*	T	*	*	*	*	*	*	T	*	*	*	*	*	A	*	G	T	*	*	*	*	*	*	C	T	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	A	*	*	*	*	*	*	*	*	
HAPD	*	T	*	*	T	*	*	*	*	*	*	T	*	*	*	*	*	A	*	G	T	*	*	*	*	*	*	*	T	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	A	*	*	*	*	*	*	*	*	
HAPE	*	T	*	*	T	*	*	*	*	*	*	T	*	T	*	*	*	*	G	T	*	*	*	*	*	*	*	*	*	G	A	*	*	*	*	*	*	*	*	A	*	*	*	*	*	*	*		
HAPF	*	T	*	*	T	*	*	*	*	*	A	T	*	*	*	*	*	*	*	*	T	*	*	*	*	T	*	*	*	T	*	*	*	*	T	*	*	*	*	*	A	*	*	*	G	*	*		
HAPG	*	T	*	*	T	*	*	*	*	*	A	T	*	*	*	*	*	A	*	*	T	*	*	*	*	T	*	*	*	T	*	*	*	*	T	*	*	*	*	*	A	*	*	*	G	*	*		
HAPH	*	T	*	*	T	*	*	*	*	*	*	T	*	*	*	*	*	*	G	T	*	*	*	*	*	*	*	*	T	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	A	*	*	*	*	*	A	*		
HAPI	*	T	*	*	T	G	*	*	*	*	*	T	*	T	*	*	*	*	*	G	T	*	*	*	*	T	*	*	*	*	G	A	*	*	*	*	*	*	*	A	*	*	*	*	*	*	*		
HAPJ	*	T	*	*	T	*	*	*	*	*	*	T	*	*	*	*	*	*	G	T	*	*	*	*	T	*	*	*	T	*	*	*	*	*	*	*	*	*	A	*	*	*	*	*	A	C			
HAPK	*	T	*	*	T	*	*	*	*	*	*	T	*	*	*	*	*	A	*	*	T	*	*	*	*	*	*	C	T	*	*	*	*	*	*	*	*	*	A	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
HAPL	*	T	*	*	T	*	*	*	*	*	A	T	*	*	*	C	*	*	*	*	T	*	*	*	*	T	*	*	*	T	*	*	*	*	*	*	*	*	A	*	*	*	G	*	*	*	*		
HAPM	*	T	*	C	T	*	G	*	*	*	*	*	*	*	*	*	A	*	G	T	*	*	*	*	*	*	*	T	*	*	A	*	*	*	*	*	*	*	A	A	T	T	*	*	*	*	*		
HAPN	*	T	*	*	T	*	*	*	*	*	A	T	*	*	*	*	*	*	*	*	T	*	*	*	*	T	*	*	*	T	*	*	*	*	T	G	*	*	*	*	A	*	*	*	G	*	*		
HAPO	*	T	*	*	T	*	*	*	*	*	A	T	*	*	*	*	*	A	*	G	T	*	*	*	*	*	*	*	T	*	*	*	*	*	*	*	*	*	A	*	*	*	*	*	*	*	*		
HAPP	*	T	*	*	T	G	*	*	*	*	A	T	*	*	*	*	*	*	*	*	T	*	*	*	*	T	*	*	*	T	*	*	*	*	T	*	T	*	*	A	*	*	*	G	*	*			
HAPQ	*	T	*	*	T	G	*	*	*	*	A	T	*	*	*	*	*	*	*	*	T	*	*	*	*	T	*	*	*	T	*	*	*	*	T	*	*	*	*	A	*	*	*	G	*	*			
HAPR	*	T	*	*	T	*	*	*	*	*	*	T	*	*	*	*	*	*	G	T	*	*	*	*	T	*	*	*	T	*	*	*	*	*	*	*	*	*	A	*	*	*	*	A	*	*			
HAPS	*	T	*	*	T	*	*	*	*	*	A	T	*	*	*	*	*	A	*	G	T	*	A	*	*	C	*	*	T	*	*	*	*	*	*	*	*	*	A	*	*	*	*	*	*	*	*		
HAPT	*	T	G	*	T	*	G	*	*	*	A	T	*	*	*	*	A	*	A	G	T	*	*	*	*	*	*	*	T	*	*	*	*	*	*	*	*	*	A	*	*	*	*	*	*	*	*		
HAPU	*	T	G	*	T	*	G	*	*	*	A	T	*	*	*	*	A	*	*	G	T	*	*	*	*	*	*	*	T	*	*	*	*	*	*	*	*	*	A	*	*	*	*	*	*	*	*		
HAPV	*	T	*	*	T	*	*	*	*	*	*	T	*	*	*	*	A	A	*	G	T	*	*	*	*	*	*	*	T	*	*	*	*	*	*	*	*	A	T	*	*	*	*	*	*	*			
HAPW	*	T	*	C	T	*	*	*	*	*	*	T	C	*	*	*	*	*	*	G	T	*	*	C	*	T	*	*	*	T	*	*	*	*	*	*	*	A	*	*	*	*	*	*	*	*	*		
HAPX	*	T	G	*	T	*	G	*	*	*	A	T	*	*	*	*	A	*	*	G	T	*	*	*	*	*	*	*	T	*	*	*	G	*	*	*	*	A	*	*	*	*	*	*	*	*	*		



Cabe señalar que los haplotipos Oc02, Oc04, Oc06, Oc07, Oc11 y Oc13 fueron iguales al ya reportado por Boyce (1999) como HAP2. Por otro lado, el haplotipo Oc08 es igual a HAP7; mientras que Oc09 es un haplotipo único. Además, los haplotipos Oc01, Oc10, Oc14 y Oc15 son iguales entre ellos; así como Oc05 y Oc12 son equivalentes.

Posteriormente, se obtuvo un dendograma (Figura 5) sin enraizar por el método del vecino más cercano, que contempla la similitud entre secuencias.

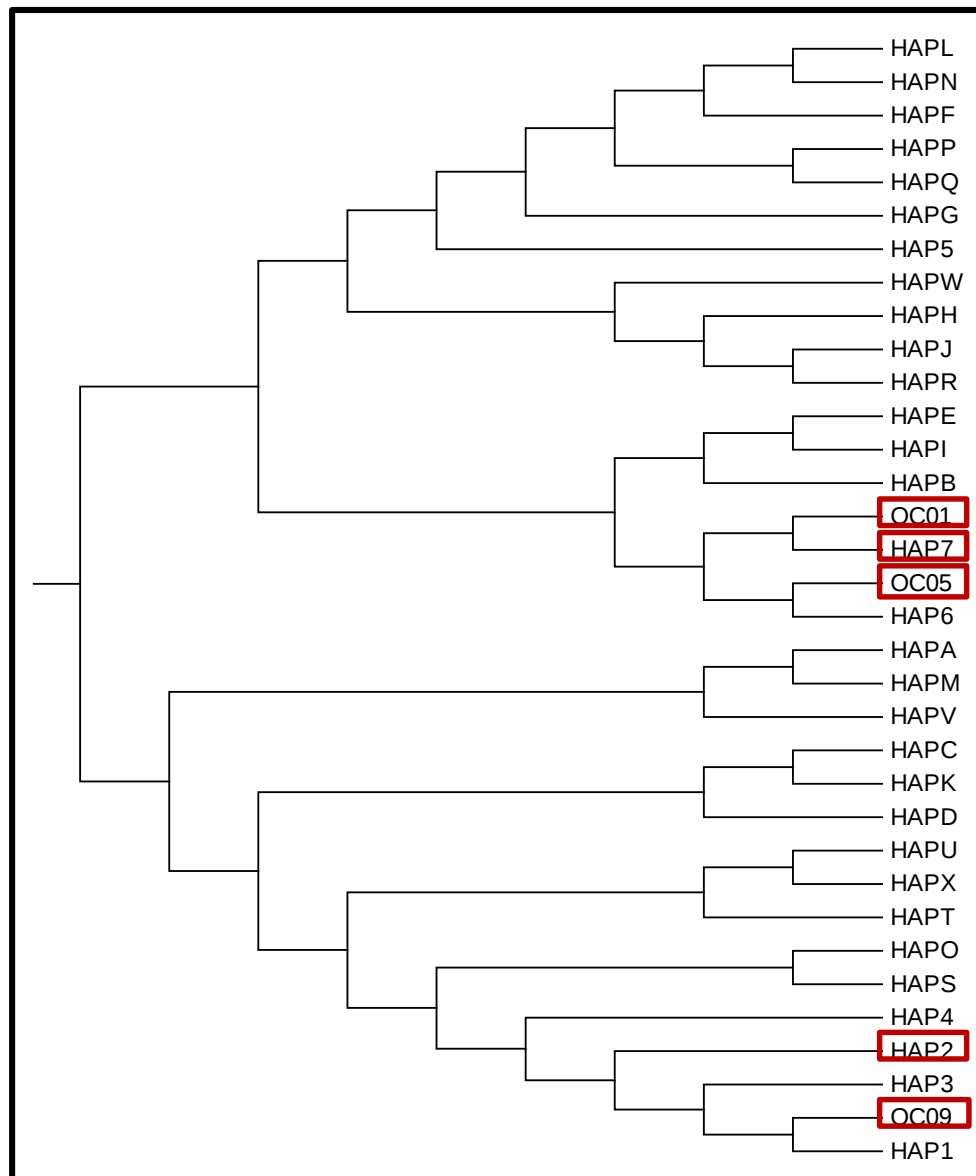


Figura 5.- Dendograma de los 34 haplotipos analizados. Los rectángulos marcan los haplotipos identificados para el norte de la Sierra Juárez.



Así mismo, se aplicó el análisis de Distancias Pareadas entre cada secuencia. En la Figura 6 se puede apreciar la distancia genética entre cada haplotipo.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34
1. OC01																																		
2. OC05	0.02																																	
3. OC09	0.02	0.02																																
4. HAP1	0.02	0.02	0.00																															
5. HAP2	0.02	0.02	0.00	0.00																														
6. HAP3	0.02	0.02	0.00	0.00	0.00																													
7. HAP4	0.02	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00																												
8. HAP5	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.02	0.02																											
9. HAP6	0.02	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02																										
10. HAP7	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.02																									
11. HAPA	0.03	0.03	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.03	0.03	0.02																								
12. HAPB	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02																							
13. HAPC	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.01																						
14. HAPD	0.01	0.02	0.01	0.01	0.00	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.01	0.00																					
15. HAPE	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.03	0.01	0.01	0.01																				
16. HAPF	0.02	0.02	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01	0.00	0.03	0.02	0.03	0.02	0.01	0.01	0.02	0.00																		
17. HAPG	0.02	0.03	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00	0.03	0.02	0.03	0.01	0.01	0.01	0.02	0.00																		
18. HAPH	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.00	0.01	0.01	0.01																	
19. HAPI	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.03	0.01	0.02	0.01	0.00	0.02	0.02	0.01																
20. HAPJ	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00	0.01															
21. HAPK	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.01														
22. HAPL	0.02	0.03	0.02	0.02	0.01	0.02	0.02	0.00	0.03	0.02	0.03	0.02	0.02	0.01	0.02	0.00	0.00	0.01	0.02	0.01	0.01													
23. HAPM	0.02	0.03	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.03	0.02	0.01	0.02	0.02	0.01	0.02	0.03	0.02	0.02	0.03	0.02	0.02	0.03												
24. HAPN	0.02	0.03	0.02	0.02	0.01	0.02	0.02	0.00	0.03	0.02	0.03	0.02	0.02	0.01	0.02	0.00	0.00	0.01	0.02	0.01	0.01	0.00	0.03											
25. HAPO	0.02	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.02	0.02	0.02	0.01	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01	0.02	0.01										
26. HAPP	0.02	0.03	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.03	0.02	0.03	0.02	0.02	0.02	0.02	0.00	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.03	0.01	0.01								
27. HAPQ	0.02	0.03	0.02	0.02	0.01	0.02	0.02	0.00	0.03	0.02	0.03	0.02	0.02	0.01	0.02	0.00	0.00	0.01	0.02	0.01	0.01	0.00	0.03	0.00	0.01	0.00								
28. HAPR	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00	0.01	0.00	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01							
29. HAPS	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.00	0.02	0.02	0.01					
30. HAPT	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.02	0.02	0.01	0.01				
31. HAPU	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.02	0.02	0.01	0.01	0.00			
32. HAPV	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.00	0.01	0.02	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01		
33. HAPW	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.02	0.02	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.02	0.02	0.01	0.02	0.02	0.02	0.01	
34. HAPX	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.02	0.02	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01	0.02

Figura 6.- Distancias Pareadas entre las 34 secuencias analizadas.



Phylogenetic tree of 20 populations of the genus *Hesperomys*. The tree is rooted at the top and shows relationships between populations. The populations are color-coded by geographic distribution:

- Norte de Sierra Juárez (Red):** Oc08, Oc10, Oc09, Oc02, Oc05.
- Suroeste de California Boyce (1999) (Green):** H1, H3, H4, H5, H6.
- Sur de California Epps (2005) (Blue):** HT, HX, HU, HM, HA, HH, HR, HW, HJ, HI, HE, HO, HG, HF, HN, HL, HS, HQ, HP, HB, HV.

The tree shows a complex network of relationships, with several populations (Oc08, Oc10, Oc09, Oc02, Oc05) forming a distinct cluster at the top, and others (H1, H3, H4, H5, H6) forming a cluster at the bottom. The central part of the tree is dominated by populations from Sur de California (blue).



Discusión

Como se aprecia en la Figura 4, de las 14 muestras que se analizaron, sólo se encontraron 5 linajes maternos diferenciados para las poblaciones al norte de Sierra Juárez. Dichos linajes se compararon con los haplotipos reportados en GENE BANK, y se encontró mayor similitud con los descritos por Boyce *et al.*, en 1999. Por otro lado, se puede observar que OC01, OC05 y OC09 son similares a los haplotipos HAP7, HAP6 y HAP1 respectivamente (Figura 5).

El HAP7, al distribuirse en 8 de las 9 poblaciones estudiadas por Boyce y colaboradores (1999), se reporta que debe estar asociado a cierta selección ventajosa. Y la única población donde dicho haplotipo no se presentó fue San Jacinto; que se ubica al norte del resto de las poblaciones en California, que sólo presenta los HAP3 y HAP5 (Figura 8).

Además se puede observar que Oc08 -que fue igual que el haplotipo H7- sólo se encontró al norte de Sierra Juárez. Mientras que su símil, el haplotipo Oc01, se encuentra tanto en la parte central y sur de la zona de estudio (Figura 3).

Si bien, los organismos Oc08 y Oc09 se capturaron en el mismo punto geográfico, ambos pertenecen a clados diferentes. Oc09 presenta gran similitud con Oc02, que se localiza en las partes norte, central y sur del área de muestreo (Figura 3).



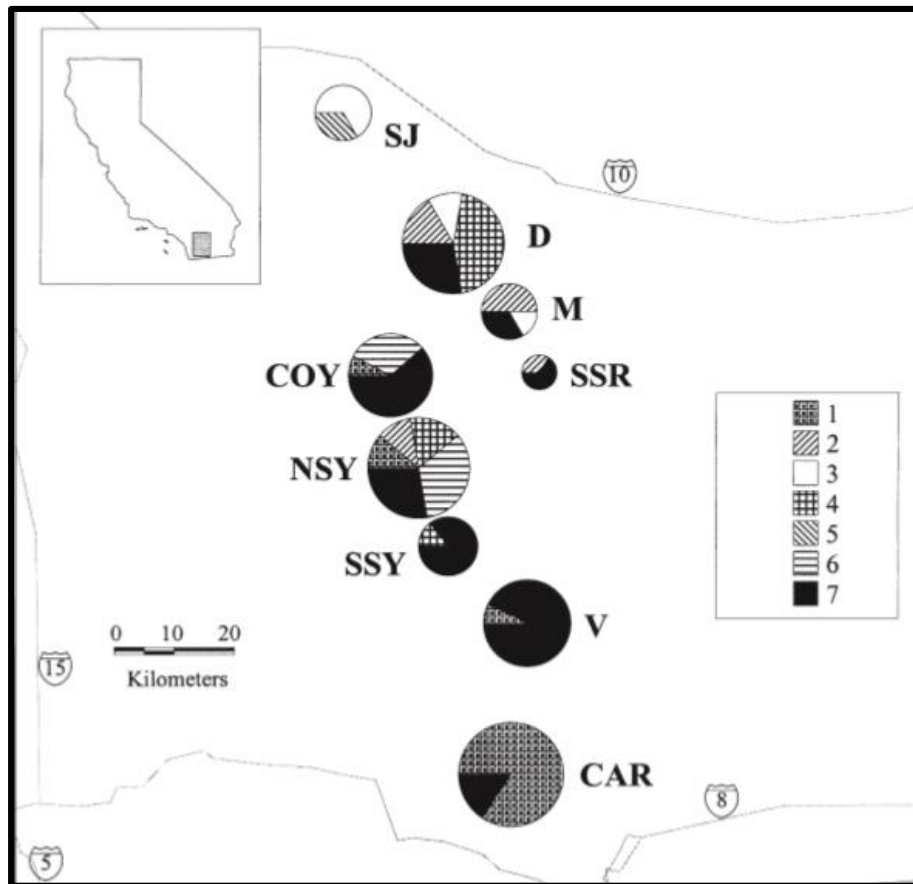


Figura 8.- Poblaciones evaluadas por Boyce (1999), con las 7 haplotipos reportados. (Tomado de Boyce, 1999)

Si bien, este haplotipo es similar a OC01, para estas poblaciones no fue el más distribuido. Sólo se reportan 4 haplotipos iguales (OC01, OC10, OC14 y OC15) de las 14 muestras. En el caso del norte de Sierra Juárez, el haplotipo con mayor frecuencia fue el OC02, junto con 5 muestras más (Figura 4), alcanzando un valor de 0.4285.

Por otro lado, en la figura 7, se observa que Oc02 sólo presenta una diferencia en nucleótidos con cinco haplotipos, 1 de Sierra Juárez (Oc09), 3 de Boyce (H1, H3 y H4) y 1 de Epps (HO). El organismo Oc02, fue capturado a la mitad del área de estudio, estando relacionado con Oc09 que fue detectado antes de la frontera con Estados Unidos. Misma relación maternal se observa con H1, haplotipo que fue dominante en la población del Cañón Carrizo, justo pasando la frontera.



En adición, el organismo Oc05, que fue capturado al sur de Sierra Juárez, presenta relación estrecha con H6. Este último haplotipo fue encontrado en dos poblaciones del suroeste de Estados Unidos, Montañas del Norte de San Ysidro y Cañón Coyote, localizadas a la mitad de las poblaciones evaluadas por Boyce (1999) (Figura 8). Oc05 destaca por quedar en un clado independiente al resto de los haplotipos reportados para Sierra Juárez, y localizarse al sur de la zona de trabajo. Esta situación nos pone en evidencia la movilidad de esta especie. Pudiendo ubicar a un determinado organismo, con cierto linaje maternal, en una población y tiempo después, en otra.

En el diagrama de mínimas distancias genéticas (MSN) se observa mayor relación filogenética de los haplotipos reportados para Sierra Juárez para los de Boyce (1999); y en menor grado con los referidos por Epps (2005) para las poblaciones de Estados Unidos (Figura 5 y Figura 9).

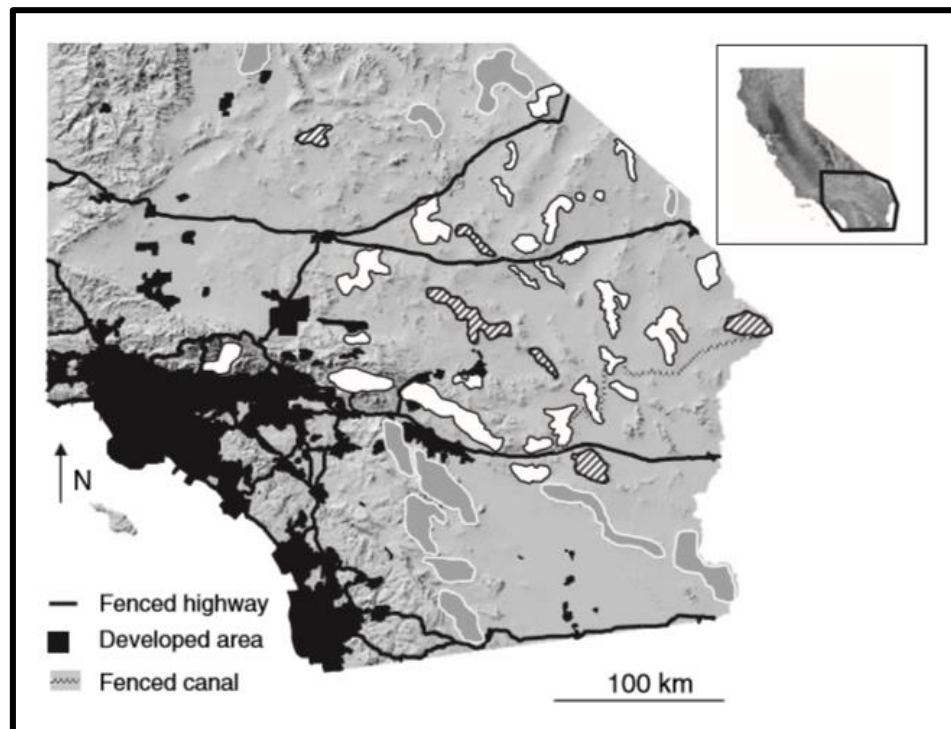


Figura 9.- Poblaciones estudiadas por Epps (2005), al sur de California (Tomado de Epps, 2005).

Esto puede explicarse, debido a que las poblaciones muestreadas por Boyce y colaboradores en 1999, se ubican al suroeste del estado de California. En tanto que las poblaciones evaluadas por el segundo, se encuentran distribuidas a lo largo del sur de California, donde el desarrollo urbano y las carreteras pueden estar limitando el flujo genético con las poblaciones de Baja California.



Cabe mencionar que no se consideró analizar un modelo de sustitución de aminoácidos para las secuencias, ya que dichos modelos son importantes cuando el cambio de aminoácidos repercute en la traducción de las proteínas. Para el caso de la región control, dichos cambios no son relevantes ya que no hay codificación para una proteína.

Una baja en la diversidad genética tendrá serias consecuencias sobre el potencial evolutivo que tiene el borrego cimarrón de adecuarse a los cambios del medio ambiente (Abad, J. 2006). Si la diversidad génica de las poblaciones sigue disminuyendo al tiempo que aumentan los cambios en el medio ambiente, ya sean climáticos o espaciales, la especie puede llegar a verse en un fenómeno cuello de botella con una probable extinción local.

Diversos autores (Boyce, *et al.*, 1997; Rubin *et al.*, 1998; Boyce *et al.*, 1999) mencionan que existe una baja migración de hembras entre las poblaciones de borrego cimarrón en la Península. Pero que el flujo genético está mediado por los grupos de machos y que las subpoblaciones en esta zona, presentaban niveles altos de diversidad genética nuclear (Boyce, *et al.*, 1997).

No obstante, Epps (2005) señala que la diversidad genética nuclear se ve gravemente reducida en estas poblaciones, debido a la presencia de barreras humanas. Posterior a la formación de metapoblaciones pequeñas que se reproducen entre sí, aumentando la endogamia.

Debido a lo anterior, se recomienda ampliar el estudio con el uso de microsatélites que permita evaluar la diversidad genética nuclear; ya que se contempla el flujo genético mediado por los machos.

En adición, como se mencionó anteriormente, la identificación de subespecies con base en las características fenotípicas parece no ir acorde con los avances realizados en el área de marcadores moleculares o código de barras (Boyce 1997).

Por lo que, además de extender el área de estudio, es necesario realizar trabajos con marcadores moleculares que permitan la identificación de subespecies; como lo son el Citocromo b y Citocromo oxidasa. Ya que no se ha podido esclarecer hasta qué punto se ha ampliado la distribución de las subespecies *O. c. cremnobates* y *O. C. nelsoni* hacia el sur de California y el norte de Baja California respectivamente. De manera general, se sigue utilizando la Figura 1, como el referente principal sobre la distribución; no obstante, se requiere la actualización de dicha información, considerando que los asentamientos humanos están en continuo crecimiento.



Finalmente, concuerdo con Epps (2005) en que se debe buscar la forma de mitigar el impacto y amenaza que representan las barreras humanas -ya sean carreteras, desarrollo humano, cerco fronterizo, entre otros- para las poblaciones de borrego cimarrón. Pues a medida que crecen los asentamientos humanos, las poblaciones salvajes se dividen, limitando el flujo genético entre las mismas.

Conclusiones



De las 14 muestras que se analizaron, se encontraron 5 haplotipos diferentes (Oc01, Oc02 Oc05, Oc08, Oc09) en un fragmento de 590 bases; dentro de la población ubicada al norte de Sierra Juárez.



Una vez que se compararon con los haplotipos reportados en GENE BANK, se observaron 3 haplotipos únicos de las 14 muestras (Oc01, Oc05 y Oc09).



De los haplotipos identificados, dos corresponden a los reportados previamente por Boyce (1999). El haplotipo HAP2 (AF076912), fue igual que Oc02, Oc04, Oc06, Oc07, Oc11 y Oc13. Mientras que HAP7 (AF076917) es igual que el haplotipo Oc08.



Se encontraron 46 sitios variables a lo largo de las 34 secuencias analizadas, considerando los ya registrados y los 3 nuevos haplotipos.



Se observó una mayor relación maternal con los haplotipos registrados por Boyce (1999) para las poblaciones del suroeste de California, Estados Unidos.



Referencias

- Abad, J. 2006. Análisis de la diversidad genética de dos poblaciones de borrego cimarrón (*Ovis canadensis mexicana*). Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Chihuahua.
- Abad, J. y Sifuentes, A. y Lafón, A. y Gutiérrez, J. y González, E. *et al.*, 2011. Genetic diversity analysis of two desert bighorn sheep (*Ovis canadensis mexicana*) population in Mexico. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, vol 14, núm. 1 pp 171-178
- Álvarez, T. 1976. Status of desert bighorn sheep in Baja California. *Desert Bighorn Transactions*. 20:18-21
- Avise, J. 2000. *Phylogeography, the history and formation of species*. Harvard University Press, Cambridge, EUA.
- Avise, J. y Arnold, J. y Ball, R. y Bermingham, E. y Lamb, T. y Niegel, J. y Reeb, C. y Saunders, N. 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 18:489-522.
- Ayala, S. Estrés Fisiológico Relacionado con la Dinámica Reproductiva del borrego Cimarrón *Ovis canadensis cremnobates*, en la sierra San Pedro Mártir, Baja California, México. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Baja California.
- Beebe y Rowe. 2006. *An Introduction to Molecular Ecology*. 1ra ed. OXFORD University Press. EUA.
- Beebe y Rowe. 2008. *An Introduction to Molecular Ecology*. 2da ed. OXFORD University Press. EUA.
- Berger, J- 1982. Female Mating Age and Lamb Survival in Desert Bighorn Sheep (*Ovis canadensis*). *Journal of Mammalogy*. 46:183-190.
- Boyce, W. y Hedrick, N. y Muggli-Cockett, S. y Kalinowski, M. y Penedo, R. y Ramey. 1997. Genetic variation of major histocompatibility complex and microsatellite loci: a comparison in bighorn sheep. *Genetics*. 155(2):421-433.
- Boyce, W. y Ramey, R, Rodwell, T. y Rubin, E. y Singer, R. 1999. Population subdivision among desert bighorn sheep (*Ovis canadensis*) ewes revealed by mitochondrial DNA analysis. *Molecular Ecology*. 8, 99-106
- Cohn, J. 2007. The Environmental Impacts of a Border Fence. *BioScience*, 57(1): 96-96
- Dávila, C. J. 1970. Resultados de la Temporada Experimental de Caza de Cimarrones en el Territorio de Baja California. *Bosques*: 49-54.



- Domínguez, C. 2009. Estudio comparativo preliminar de los bosques de la Sierra de Juárez, Baja California (México) y la Serranía de Cuenca (España).
- Eaton, B. 2002. Estrategia de manejo para el Borrego cimarrón (*Ovis canadensis cremnobates* Elliot, 1903), basada en la evaluación de los elementos estructurales del hábitat, en la Sierra San Pedro Mártir, Baja California, México. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Baja California.
- Epps, C. y Wehausen, J. y Palsboll, P. y McCullough, D. 2005. Chapter 4, Using Genetic Analyses to Describe and Infer Recent Colonizations by Desert Bighorn Sheep. Sweeney Granite Mountains Desert Research Center. 51-62
- Epps, C. y Palsboll, P. y Wehausen, G. y Ramey, R. y McCullough, D. 2005. Highways block gene flow and cause a rapid decline in genetic diversity of desert bighorn sheep. Ecology letters. 8: 1029-1038
- Epps, C. 2004. Population processes in a changing climate: Extinction, dispersal, and metapopulation dynamics of desert bighorn sheep in California. Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias. Universidad de California, Berkley. 124 pp.
- Escobar, J. 2008. Análisis espacio-temporal de la proporción de sexos y uso de hábitat del borrego cimarrón (*Ovis canadensis*) para elaborar recomendaciones de manejo en la sierra San Felipe, Baja California, México. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Baja California.
- Festa-Bianchet, M. 2008. *Ovis canadensis*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.3. Consultado en Noviembre 20, 2014 en www.iucnredlist.org
- Fisher, R. 1930. The Genetical Theory of Natural Selection. Oxford at the Clarendon Press.
- Flesch, A. y Epps, C. y Cain, J. y Clark, M. y Krausman, P. y Morgart, J. 2009. Potential Effects of the United States-Mexico Border Fence on Wildlife. Conservation Biology, 24.1 171-181
- Gaceta Parlamentaria. 2002. Cámara de Diputados. Número 990-II.
- Galindo M.M.E. 2000. Hábitos Alimentarios del borrego cimarrón (*Ovis canadensis cremnobates*) en la Sierra San Pedro Mártir, Baja California, México. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Baja California.



- Gobierno del Estado de Baja California. 2012. Estrategia Estatal para la Conservación y Manejo Sustentable del Borrego Cimarrón (*Ovis canadensis cremnobates*) en Baja California. Periódico oficial del estado de Baja California. CXX(11):3- 126
- González R. 2006. Análisis Histológicos de Borrego Cimarrón (*Ovis canadensis*) en Baja California y Sonora, México. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California.
- Krausman, P. y Leopold, B. y Seegmiller, R. y Torres, S. 1989. Relationships between Desert Bighorn Sheep and Habitat in Western Arizona. Wildlife Monographs. 102:66.
- Lee, R. 1989. The Desert Bighorn Sheep in Arizona. The University of Arizona Press. Tucson.
- Lee, R. M. 1998. Status of Bighorn Sheep Management Programs in Mexico–1997. Desert Bighorn Council Transactions. 42: 45-46.
- Mandujano, S. 1994. Conceptos Generales del Método de Conteo de Animales en Transectos. Ciencia. 45:203-211.
- Nowak, R. M. 1991. Walker's Mammals of the World. The Johns Hopkins University Press. Baltimore, Maryland, EUA.
- Peinado, M. y Bartolome, C. y Delgadillo, J. y Aguado I. 1994. Fitogeografía de la Península de Baja California, México. Anales del Jardín Botánico de Madrid, 51(2):255
- Pezoa, A. 2001. Estrategia de la Conservación de la Diversidad Biológica. 18:273-280. en Libro Rojo de la Fauna Nativa y de los Sitios Prioritarios para su Conservación, Región de Coquimbo (F. A. Squeo, G. Arancio y J. R. Gutierrez edi.). Universidad de La Serena. La Serena, Chile.
- Rentería. 2007. Breve revisión de los marcadores moleculares. Capítulo 18 en *Ecología molecular*. Instituto Nacional de Ecología. SEMARNAT.
- Rocha y Gasca. 2007. Ecología molecular de la conservación. Capítulo 8 en *Ecología molecular*. Instituto Nacional de Ecología. SEMARNAT.
- Sánchez, R. 1978. Hábitos alimenticios del borrego cimarrón. Bosques y Fauna 1(1):47-55. SARH. México.
- Santos, R. 2014. Descripción de las comunidades vegetales en el norte de Sierra Juárez, Baja California, zona de distribución de borrego cimarrón (*Ovis canadensis cremnobates*). Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California. (Sin Publicar).



- SEMARNAT. 2000. Proyecto para la Conservación, Manejo y Aprovechamiento Sustentable del Borrego Cimarrón (*Ovis canadensis*) en México. Instituto Nacional de Ecología. Dirección General de Vida Silvestre.
- SEMARNAT. 2013. Especies Silvestres Mexicanas. Consultado en Noviembre 2, 2014 en <http://www.semarnat.gob.mx/temas/gestion-ambiental/vida-silvestre/especies-silvestres-mexicanas>
- Smith, N. y Krausman, P. 1988. Desert bighorn sheep: A guide to selected management practices. A literature review and synthesis including appendixes on assessing condition, collecting blood, determining age, constructing water catchments, and evaluating bighorn range. U.S. Fish Wild. Serv., Biol. Rep. 88 (35). 27 pp
- Vázquez, E. 2007. Filogeografía y vertebrados. Capítulo 14 en *Ecología molecular*. Instituto Nacional de Ecología. SEMARNAT.

