UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS

CARACTERIZACIÓN DE LA ESTRUCTURA GENÉTICA POBLACIONAL E IMPLICACIONES EN EL MANEJO DE BORREGO CIMARRÓN (*Ovis canadensis cremnobates*) AL NORTE DE BAJA CALIFORNIA, MÉXICO

T E S I S

QUE PAA CUBRI PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS EN ECOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA

DIANA GABRIELA ESQUIVEL RAMIREZ

ENSENADA, BAJA CALIFORNIA, MÉXICO

AGOSTO, 2017

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

INSTITUTO DE INVESTIGACIÓNES OCEANOLÓGICAS

POSGRADO EN ECOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA

CARACTERIZACIÓN DE LA ESTRUCTURA GENÉTICA POBLACIONAL E IMPLICACIONES EN EL MANEJO DE BORREGO CIMARRÓN (*Ovis canadensis cremnobates*) AL NORTE DE BAJA CALIFORNIA, MÉXICO.

T E S I S

QUE PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA

DIANA GABRIELA ESQUIVEL RAMÍREZ

Aprobada por

Dr. Faustino Camarena Rosales
Director de tesis

MC. Jorge Alaniz García
Codirector de tesis

Dr. Luis Manuel Enríquez Paredes
Sinodal

Dra. Yolanda Schramm Urrutia
Sinodal

AGRADECIMIENTOS

A lo largo de estos dos años he aprendido el verdadero significado de la familia, en especial, este trabajo está dedicado a mis papás y a mi hermana, a quienes agradezco profundamente su apoyo incondicional e interés por mi desarrollo tanto profesional como personal. Gracias Elvia Ramírez por ser mi modelo a seguir y el claro ejemplo de la fortaleza que una mujer puede llegar a tener. Gracias Adolfo Esquivel por brindarme todas las herramientas para afrontar la vida profesional siempre con una sonrisa en el rostro. Gracias Vero por ser la primera en creer en mí y ser mi motivación para cumplir nuevas metas. Porque como hermanas, podemos ver Frozen en Once Upon a Time y Supernatural e identificarnos con ambos.

Gracias a mis tíos Alejandro Treviño y Gloria Corona, quienes me han enseñado más de lo que se imaginan, más de lo que me han contado pero exactamente lo que he necesitado. Muchas gracias a toda mi familia, pues desde lejos siempre me han apoyado e impulsado a cumplir mis sueños sólo para tener nuevos.

También aprendí que las amistades pueden afrontar tiempo y distancia, pero se gozan al máximo cuando se convive frente a frente. Gracias Alan Quiroz por recibirme con los brazos abiertos cuando más lo necesité. Gracias Samantha Paez por las conversaciones a la media noche, aun cuando tenías que madrugar. Gracias Alejandra Hernández porque aunque eres parte de la familia, el tiempo nos ha permitido ser amigas también.

Gracias al club de chicas por las incontables risas y desvelos, porque aprendimos que aunque el tiempo se encarga de acomodar todo, un poco de alcohol ayuda bastante. Gracias Ana Cárdenas y Karina Cerda por enseñarme a verme completa y a descubrirme suficiente.

En el salón de clases hice amistad con nuevas personas y con compañeras que nunca pensé llegar a congeniar. Me enseñaron que una sala de estar puede ser un quirófano cuando existe dedicación y pasión. Que tener prácticas de laboratorio los sábados puede ser muy divertido cuando hay donas y pizza en el break. Y que cada quien se vuelve un experto en su propio tema. Gracias a todos mis compañeros, pues sentimos la misma pasión por la ciencia, el mismo deseo de superación y las mismas ganas de aprender.

Muchas gracias al Dr. Faustino, por transmitirme siempre su buena energía, entusiasmo y brindarme plena confianza al trabajar en el laboratorio. Al M.C. Jorge Alaniz porque me enseñó que no son años ni kilos, es experiencia lo que uno carga con el paso del tiempo. Gracias al Dr. Luis por sus clases y conocimientos transmitidos, que a lo largo de este tiempo solo han hecho que me enamore más de mi carrera y ahora de mi maestría. Y a la Dr. Yolanda por enseñarme que la vida de un científico, por más demandante que sea, no es vida si uno no aprende a disfrutarla y a vivirla.

Gracias a la Universidad Autónoma de Baja California por aceptarme en este programa de posgrado, hoy sé que fue la mejor decisión que pude haber tomado hace dos años. Gracias al Laboratorio de Biología Molecular y al Laboratorio de Ecología Molecular por dejarme realizar mis extracciones y PCR incluso los domingos por la tarde. A la Facultad de Ciencias y Ciencias Marianas, pues los jardines y las tortugas han despejado mi mente en momentos de estrés. Además la cafetería fue el punto de reunión entre mis compañeros y la razón de permanecer despierta luego de tres horas seguidas de clase.

Al Instituto de Investigación para la Conservación del Zoológico de San Diego, en especial a la M.C. Asako Navarro, al Dr. Mathias Tobler y a la Dr. Lisa Nordstrom, quienes me brindaron apoyo y confianza incondicional para la realización del trabajo de laboratorio. Así como a los proyectos "IDENTIFICACIÓN DE CORREDORES DE BORREGO CIMARRÓN (Ovis canadensis) EN SIERRA JUÁREZ" e "INSTRUMENTACIÓN DE LAS LÍNEAS DE ACCIÓN DE LA ESTRATEGIA ESTATAL PARA LA CONSEVACIÓN Y MANEJO SUSTENTABLE DEL BORREGO CIMARRÓN EN BAJA CALIFORNIA". El apoyo de todos ellos fue fundamental para la realización de este trabajo.

Agradezco también a la Comisión Nacional de Ciencia y Tecnología, que bajo la beca N° 584544 me permitió dedicarme completamente a mis estudios y Tesis de Maestría; con lo que aprendí a manejar mis finanzas y dar el siguiente paso hacia la vida adulta.

Finalmente, después de tanto esfuerzo, dedicación y superación, aprendí a disfrutar al máximo los momentos felices y a ser paciente y fuerte en los momentos difíciles. A trabajar en lo que puedo cambiar y aceptar lo que no. Tomar sólo aquello que me sirve y librarme de lo que no. A confiar en el tiempo pero sobre todo en mí misma. Pero principalmente, aprendí a vivir plenamente y en paz, a vivir sin tristezas ni enojos porque esas pertenecen al pasado y sin ansiedad o preocupaciones porque esas corresponden al futuro.

Ah! Y También aprendí un poco sobre genética poblacional…¡¡¡Muchas gracias a todos!!!

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS 3

ÍNDICE 5

RESUMEN 6

ABSTRACT 7

INTRODUCCIÓN 8

ÁREA DE ESTUDIO 13

MATERIAL Y MÉTODOS 15

Trabajo de campo 15

Análisis de laboratorio 16

Análisis estadístico 16

RESULTADOS 17

DISCUSIÓN 22

Implicaciones en el manejo 27

LITERATURA CITADA 30

ANEXOS 38

RESUMEN

Una de las especies que destaca dentro de la fauna de Baja California es el borrego cimarrón. Se destaca por su singular belleza, importancia ecológica, histórica y cinegética. La mayoría de los estudios que se han realizado en la zona no abordan temas de diversidad genética o estructura genética poblacional; históricamente se han enfocado en la alimentación, reproducción y morfometría. La falta de este conocimiento conlleva a la toma de decisiones políticas y sociales sin ninguna base científica. En años recientes, la preocupación sobre el desarrollo de parques eólicos, asentamientos humanos y una frontera impermeable con Estados Unidos ha incrementado en relación a las consecuencias sobre la fauna. En este trabajo se utilizó ADN de heces (n=25) recolectadas en campo para la amplificación de un panel de 25 loci de microsatélites (Buchalski, 2015) que permitieron determinar la estructura poblacional así como la conectividad al norte de Baja California, México. Se encontró baja diversidad comparable con estudios realizados para la misma especie al sur de Estados Unidos (Heterocigosidad esperada=0.528, Riqueza alélica=3.22). El análisis implementado en STRUCTURE determinó 3 grupos diferenciados: Sierra Juárez (SJ), Sierra Cucapá (SC) y Sierra San Pedro Mártir (SSPM). También se determinó una estructura genética baja a moderada con base en los índices de fijación obtenidos en ARLEQUIN (Fst=0.058-0.141). Finalmente, se reportan organismos emparentados en primer, segundo y tercer nivel entre las tres poblaciones de acuerdo con el análisis TRIO ML. Se encontraron 11 individuos dentro de SC que se encuentran emparentados en primer nivel entre ellos. Mientras que 4 individuos de SSPM tienen parentesco en tercer grado con organismos en SJ y SC. Los resultados obtenidos coinciden con estudios previos en la presencia de metapoblaciones de borrego cimarrón que se ven afectadas por la discontinuidad del hábitat debido a la infraestructura antropogénica. La construcción de estructuras impermeables tendrá un impacto severo en estas poblaciones ya que evidencia directas en campo sugieren la movilidad de organismos en la zona fronteriza. Se resalta la importancia del establecimiento de corredores faunísticos y en última instancia, la movilidad de organismos entre sierras con base en su similitud genética o grado de parentesco.

Palabras clave: *Ovis canadensis*, estructura genética poblacional, diversidad genética, muro fronterizo, corredores biológicos.

ABSTRACT

One of the species that stands out among the fauna of Baja California is the bighorn sheep. It stands out for its unique beauty, ecological, historical and hunting importance. Most of the studies that have been carried out in the area do not address issues of genetic diversity or population genetic structure; they have historically focused on feeding, breeding and morphometry. The lack of this knowledge leads to political and social decision-making without any scientific basis. In recent years, concern about the development of wind energy infrastructure, human settlements, and the construction of a US-Mexico border fence has increased in relation to the consequences on wildlife. In this work, we used fecal DNA (n = 25) collected in the field for the amplification of a 25 microsatellite loci panel (Buchalski, 2015) that allowed us to determine the population structure as well as the connectivity within north of Baja California, Mexico. We found low genetic diversity comparable with studies conducted for the same species in the southern United States (expected heterozygosity = 0.528, allelic richness = 3.22). The analysis implemented in STRUCTURE determined 3 different groups: Sierra Juarez (SJ), Sierra Cucapá (SC) and Sierra San Pedro Martir (SSPM). A low to moderate genetic structure was also determined based on the fixation indices obtained in ARLEQUIN (Fst = 0.058-0.141). Finally, we report individuals related on first, second and third level among the three populations according to the TRIO ML analysis performed. We found 11 individuals within SC who are related on first grade between them. While 4 individuals from SSPM are related in third grade to organisms in SJ and SC. Our results agree with previous studies on the presence of metapopulations of bighorn sheep, which are affected by the discontinuity of the habitat due to the anthropogenic infrastructure. The construction of impermeable structures, such as the US-Mexico border, will have a severe impact on these populations since direct evidence in the field suggests that mobility of individuals occur in the border area. The importance of the establishment of faunal corridors and, ultimately, the mobility of organisms between locations, based on their genetic similarity or degree of kinship are emphasized.

Key words: *Ovis canadensis*, population genetic structure, genetic diversity, US-Mexico border fence, biological corridors.

INTRODUCCIÓN

El aislamiento geográfico tiene como consecuencia efectos importantes en la estructura genética de las poblaciones silvestres. Este proceso puede ocurrir de forma natural en casos como aislamiento por distancia (IBD), aislamiento por limitación de dispersión (IBDL) o aislamiento por adaptación (IBA) y monopolización (M) (Orsini et al. 2013). Las poblaciones pueden separarse físicamente cuando su hábitat es dividido por una barrera natural -como ríos, montañas, glaciares, etc., o bien por barreras artificiales (Su et al. 2003). Dichas barreras no necesitan ser completamente impermeables para tener un efecto en la vida silvestre; las barreras semipermeables como carreteras o asentamientos humanos pueden alterar el curso y tiempo de migración de las especies llevando al aislamiento reproductivo o bajo flujo génico (Olson 2014).

Para que la protección de hábitats y su biodiversidad sean efectivas, los planes de manejo y conservación deben contextualizarse a nivel ecosistémico, lo que conlleva la necesidad de trascender fronteras políticas y coordinar la cooperación entre países; aún con las complicaciones de seguridad nacional (Zbicz 2003). Como parte de las políticas migratorias de los Estados Unidos de América, la administración actual ha propuesto la construcción de un muro impermeable en la zona fronteriza con México que pretende dar solución a problemas de seguridad nacional. Las afectaciones de este proyecto sobre la fauna silvestre se relacionan principalmente con la destrucción de hábitat y el impedimento del cruce de animales. Sin duda, las especies silvestres enlistadas en la NOM-059-SEMARNAT-2001, se verán mayormente afectadas, ya que se encuentran dentro de alguna categoría de riesgo. Algunos ejemplos son: el berrendo, el bisonte americano, el jaguar, el lobo mexicano, el ocelote, el oso negro, el perrito llanero de cola negra, el puercoespín norteño, el tejón, la

zorra de desierto, la codorniz Moctezuma y el guajolote silvestre, entre otras (Moya 2007). Un caso de particular importancia para el estado de Baja California es el del borrego cimarrón, especie de importancia histórica, ecológica y cinegética (Eaton-González et al. 2017).

El borrego cimarrón presenta un marcado dimorfismo sexual que se observa en la cornamenta. El tamaño de la cornamenta ha sido el 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).Con base en características fenotípicas, se identifican 7 subespecies de borrego cimarrón; 3 de montaña y 4 de desierto (Wehausen y Ramey, 2000). Las tres subespecies de montaña son *O. c. californiana, O. c. auduboni* (actualmente extinta) y *O. c. canadensis*. En tanto que las subespecies de desierto son *O. c. nelsoni, O. c. mexicana, O. c. cremnobates* y *O. c. weemsi.* Encontrándose en México las últimas tres subespecies, (SEMARNAT 2000).

El hábitat en el que se distribuye el borrego cimarrón, desde Estados Unidos hasta México, presenta características desérticas cálidas, con terrenos agrestes, rocosos y divididos por cañadas, montañas bajas, riscos y laderas. En el estado de Baja California, México, existen evidencias de que la subespecie *O. c. cremnobates* 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 San Juan (Gobierno del Estado de Baja California 2012), con una superficie de distribución de 10,875 km^2 a 34,000 km^2 (Navarro y Ambríz 2008), y una abundancia estimada de 381 individuos (Tapia y Magaña 2014). Teniendo como límite de distribución la frontera con el estado de

California en Estados Unidos hacia el norte, hasta Loreto en Baja California Sur (SEMARNAT 2000, Eaton-González et al. 2017).

La especie está sujeta a "Protección Especial" (PR) de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-059-2010 (SEMARNAT 2010) y está enlistada en el Apéndice II de la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora (CITES 2017). 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).

Debido al avance de la tecnología, actualmente el monitoreo no invasivo es una herramienta de gran importancia para estudios, tanto genéticos como en conservación de poblaciones silvestres (Maturrano et al. 2012). El uso de herramientas moleculares para la resolución de estos problemas ha tenido gran importancia en los últimos años. Específicamente, el uso de marcadores microsatélites tiene gran potencial para proveer información reciente sobre migración, y estimación de la relación entre individuos (Selkoe y Toonen 2006). En el caso particular del borrego cimarrón, el acceso a tejidos o sangre resulta muy difícil; por lo que el uso de heces ha sido reportado para varios estudios (Wehausen et al. 2004, Epps et al. 2005, Buchalski et al. 2015). No obstante, la cantidad y calidad del ADN que se logra extraer generalmente se encuentra comprometida (Maturrano et al. 2012), además que puede haber un efecto inhibitorio en la reacción de PCR debido a los compuestos secundarios de algunas plantas consumidas por el herbívoro. Aun así, se han estandarizado distintos protocolos que maximizan la extracción de ADN intacto (Wehausen et al. 2004).

En un estudio realizado con 14 microsatélites en 27 localidades ubicadas al sur de California, en el que se incluyeron muestras de 397 organismos, se evidenció una reciente

recolonización posterior a una extinción local en la mayoría de los casos, generando 27 metapoblaciones (Epps et al 2005, 2006). Por otro lado, estos autores encontraron también una correlación negativa entre la diversidad genética del borrego cimarrón y la presencia de barreras geográficas antropogénicas que limitan la dispersión de organismos a poblaciones cercanas. En un estudio más reciente, en el que se genotipificaron 25 microsatélites en un total de 224 organismos distribuidos en la frontera entre California (CA) y Baja California (BC) se encontraron tres grupos genéticamente diferenciados; al norte, centro y sur del área de estudio (F_{st}=0.09-0.15). Esta diferenciación de baja a moderada, sugiere una estructura metapoblacional (Buchlaski et al. 2015). Un grupo norte (CA) conformado por las poblaciones de Santa Rosa, Coyote Canyon y las Montañas de San Ysidro; el grupo central incluyó las muestras tomadas en Carrizo Canyon, el área fronteriza y la carretera federal 2 (CA-BC); y un último grupo conformado por las muestras tomadas al sur de esta carretera (BC).

La mayoría de la información que se tiene sobre la subespecie en Baja California proviene de trabajos de tesis profesional enfocados en la biología y ecología de la especie y no han sido publicadas en revistas arbitradas (Galindo 2000, Eaton 2002, Ayala 2003, González 2006, Escobar 2008). Recientemente se han publicado trabajos relacionados con la evaluación y rehabilitación del hábitat de borrego, percepción e importancia social de la especie, así como estudios de variación morfométrica entre subespecies (Eaton-González et al. 2017). Se evidenció la conectividad entre poblaciones ubicadas al sur de Baja California y Baja California Sur en la localidad de Loreto; donde las subespecies *O. c. cremnobtaes* y *O. c. weemsi* comparten hábitat. No obstante, no se han realizado estudios sobre diversidad

genética o estructura poblacional en ninguna de las localidades estudiadas a lo largo del estado de Baja California.

Esta falta de conocimiento repercute en la toma de decisiones que se lleva a cabo principalmente en la zona fronteriza México-Estado Unidos, entre las que destacan las propuestas para la construcción de una barda fronteriza impermeable (Ley Pública EE.UU. 109-367), la ampliación de carreteras e implementación del Proyecto Integral EcoZoneMX (SEMARNAT 2015), así como la instalación de generadores eólicos (SENER 2016). Todos estos proyectos de construcción pueden limitar el flujo génico entre las poblaciones de borrego cimarrón entre países vecinos. El aislamiento en pequeños grupos de individuos podría traer como consecuencia la reproducción entre individuos emparentados, y la aparición de caracteres no deseados, aspectos preocupantes para especies de importancia biológica y económica (Riemann 2007).

Probablemente una forma de mitigar los impactos y la fragmentación de hábitat, es evitando la construcción de una frontera impermeable y regulando estrictamente las obras de construcción en la zona. Aunque algunas posibles soluciones están enfocadas en el establecimiento de sitios prioritarios de conectividad para la fauna o corredores ecológicos (Moya 2007).

Debido a la gran importancia de esta especie, así como el impacto antropogénico que está ocurriendo en su hábitat, la falta de conocimiento que se tiene actualmente sobre estado de diversidad genética y la conectividad de sus poblaciones silvestres, este trabajo tiene por objetivo caracterizar la estructura genética poblacional de borrego cimarrón (*Ovis canadensis cremnobates*) al norte de Baja California, México; utilizando los marcadores previamente analizados en poblaciones de Estados Unidos, ampliando el estudio a las localidades

fronterizas en el país. De esta manera, tener una evaluación base que permita plantear medidas de manejo y conservación que eviten el aislamiento de las poblaciones y monitorear el impacto de las actividades antropogénicas en la diversidad genética de la subespecie. Para ello nos planteamos las siguientes preguntas: (i) ¿Cuáles son los niveles de diversidad genética de los borregos cimarrones de BC y cómo se comparan con los reportados al otro lado de la frontera? (ii) ¿Existe evidencia de diferenciación genética dentro y entre las localidades donde se distribuye la especie en BC? (iii) ¿Cuáles son las relaciones de parentesco de los individuos y que información aportan estas con respecto a la conectividad entre localidades

ÁREA DE ESTUDIO

El área de estudio comprende 3 de las sierras más importantes en Baja California, México: Sierra Juárez (SJ), Sierra San Pedro Mártir (SSPM) y Sierra Cucapá (SC) (Figura 1) SJ es un frente montañoso conformado principalmente por granodita y tonalita (Diaz-Torres et al 2012) que colinda al Oeste con la Laguna Salada y en el límite norte de la zona fronteriza con Estados Unidos, se encuentra la carretera Federal 2. SSPM, se localiza al sur de SJ y constituye parte del Sistema Peninsular del Sur de California, cuya conformación incluye principalmente rocas ígneas extrusivas e intrusivas (Peinado et al. 1994). Es en esta localidad (SSPM) donde se contempla la construcción de parques eólicos con 4 subestaciones y 3 reactores para la generación de energía (SENER 2016). De manera paralela a SJ y separada por la Laguna Salada, se encuentra la última sierra de muestreo, SC. Que cuenta con zonas

termales que consisten en suelos calientes, volcanes de lodos extintos y fumarolas (Álvarez et al. 2012).

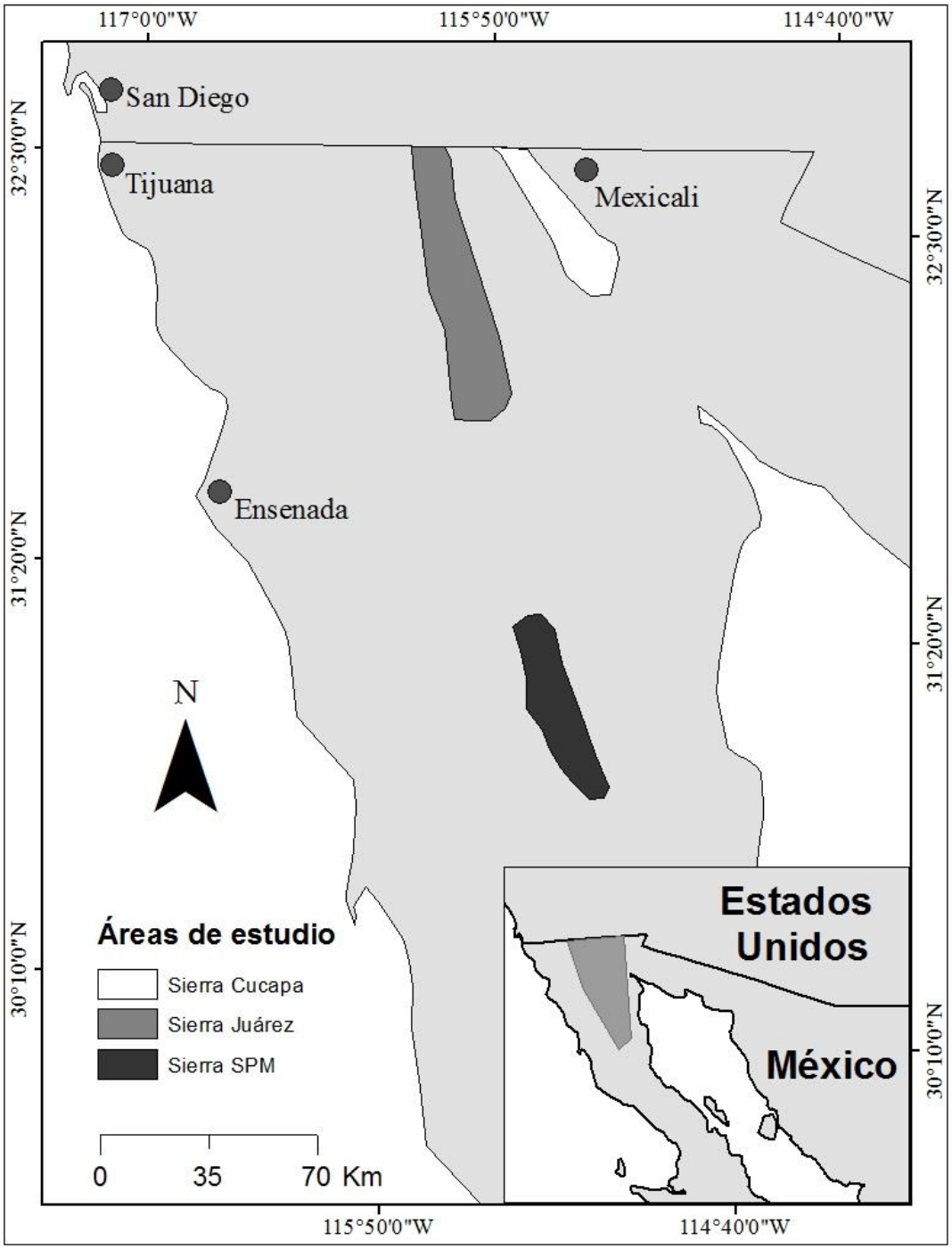

Figura 1.- Mapa de distribución de la zona de estudio. Se muestran las principales Sierras al Norte de Baja California.

MATERIAL Y MÉTODOS

Trabajo de campo

En las principales sierras del estado de Baja California, México, SJ, SSPM y SC (Fig. 1), se identificaron las zonas de distribución de borrego cimarrón con base en cámaras trampa y observación directa en campo (Epps et al. 2005). Entre marzo de 2014 y diciembre 2015, se lograron recolectar 30 muestras de heces (15-20 pellets por montículo) en cada una de las tres sierras (Tabla 1). Luego de corroborar que las heces pertenecieran a la especie en cuestión, ya sea por observación directa de los animales o por evaluación física de los pellets, las muestras se almacenaron en tubos de plástico estériles conteniendo sílica y papel absorbente (Epps et al. 2005).

Tabla 1.- Muestras recolectadas en distintas localidades para cada sierra.

Sierra	Localidad	No. muestras recolectadas	No. muestras total
Juárez	La Rumorosa	14	30
	Cañón de Guadalupe	10	
	Rancho Pikachos	6	
San Pedro Mártir	Cañón Providencia	1	30
	Cañón Esperanza	21	
	Cañón Carrizo	3	
	Santa Isabel	5	
Cucapá	Cucapá	30	30

Análisis de laboratorio

La extracción de ADN se realizó utilizando el kit DNA IQ System de Promega, y se realizó la amplificación de 25 loci de microsatélites mediante PCR, este panel fue seleccionado por su reproducibilidad con base en un panel de 40 loci conforme a Buchalski et al (2015).

Análisis estadístico

La separación y el análisis de los fragmentos amplificados se llevaron a cabo de mediante electroforesis capilar automatizada en un secuenciador De cada muestra se realizó la electroforesis capilar para el genotipado (ABI 3130xl Genetic Analyzer, Applied Biosystems) en el Instituto de Investigación para la Conservación del Zoológico de San Diego. La lectura de los electroferogramas se realizó en el software GENEMAPPER v5 y de forma independiente por tres observadores. Como parte del control de calidad de los datos, los individuos que resultaron homocigotos se analizaron por duplicado, mientras que los heterocigotos por triplicado (Taberlet et al 1996). Para la identificación de organismos únicos se utilizó el software GENALEX v6.5 (Peakall y Smouse 2006); y se calculó la probabilidad de identidad (PID) y la probabilidad de identidad para hermanos ($PID\text{-}_{sibs}$) (Paetkau y Strobeck 1994) para evaluar la confiabilidad del panel de microsatélites utilizado.

El número de poblaciones genéticamente distintas se determinó utilizando STRUCTURE v2.3.4 (Pritchard et al. 2005). Se utilizaron 5 grupos putativos (k= 5; Tabla 1) separando las localidades de cada sierra con base en su ubicación geográfica; y 10 réplicas independientes con 10 000 cadenas de Markov, aplicando el método de corrección de Evanno (2005) para determinar el número más probable de poblaciones a través del módulo

STRUCTURE HARVESTER (Earl and vonHolt 2012). Los parámetros de diversidad (promedio de alelos, número de alelos privados, heterocigosidad esperada y observada) se calcularon con el software GENALEX v6.5 (Peakall y Smouse 2006); así como la riqueza alélica utilizando el software FSTAT v2.9.3 (Goudet 2001). Para evaluar si los loci se encontraban en equilibrio de Hardy-Weinger, se aplicó la prueba de bondad de ajuste implementada en GENEPOP (Raymond y Rousset 1995) con 10 000 cadenas de Markov, para cada locus y cada población.

La estructura genética poblacional se evaluó mediante el índice de diferenciación de distancias genéticas pareadas (Fst), así como con un análisis molecular de varianza (AMOVA) utilizando el software ARLEQUIN v3.5 (Excoffier y Lischer 2010) en donde si la varianza entre poblaciones es igual a la varianza encontrada dentro de cada una, se dice que no hay estructura (Holsinger y Weir 2009). Finalmente, se calculó el coeficiente de parentesco entre todos los individuos utilizando la prueba TRIOML dentro del software COANCESTRY v1.0.1.7 (Wang, 2011). Este tipo de análisis permite medir de manera directa el intercambio de gametos y por tanto el flujo genético entre poblaciones con base en el nivel de parentesco presente (Devlin y Ellstrand 1990).

RESULTADOS

De las 90 muestras, en 30 fueron amplificados 25 loci microsatélites sin ambigüedades. Con base en el poder informativo del conjunto de marcadores empleados (PID= 1.7×10^{-18} y PID-$_{sibs}$= 3.3×10^{-8}, Anexo1), se identificaron 25 organismos únicos. El número de alelos identificados para cada locus va de 2 (para BMC1009 y OarFCB304) hasta

9 (para HSC) y, de forma global una heterocigosidad observada de 0.559 y esperada de 0.529 (Anexo 2).

Posteriormente, se identificaron tres grupos (k= 3) genéticamente distintos de acuerdo con STRUCTURE y con la corrección de Evanno (2005): Sierra Juárez, San Pedro Mártir y Cucapá (Fig. 2). En las tres poblaciones se observaron condiciones de equilibrio de Hardy-Weinberg (Tabla 1) y aunque el número promedio de alelos fue similar en las tres poblaciones (3.2 - 3.9) la población de Sierra Juárez presentó el mayor número de alelos privados (11) y la mayor riqueza alélica dentro del estudio.

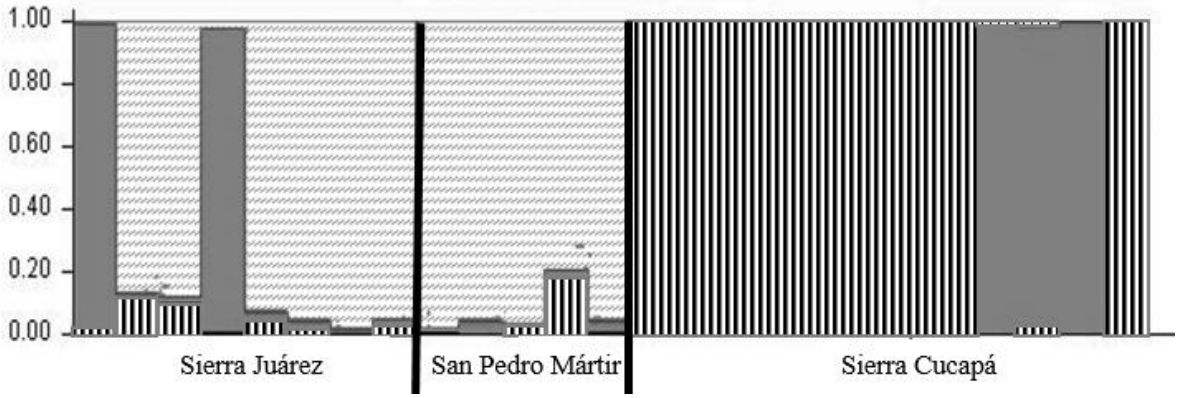

Figura 2.-Representación gráfica del análisis implementado en STRUCTURE. Estructura alcanzada en **K**=3.

Tabla 2.- Parámetros de diversidad genética para cada población. N=Tamaño de muestra; A=Promedio de alelos; AR=Riqueza alélica; PA=Número de alelos privados; He=Heterocigosidad esperada; Ho=Heterocigosidad observada; Fis= Coeficiente de endogamia.

Población	N	A	AR	PA	He	Ho	H-W
Sierra Juárez	8	3.9	3.48	11	0.580	0.610	Si
San Pedro Mártir	5	3.2	3.28	9	0.510	0.608	Si
Sierra Cucapá	12	3.5	2.90	8	0.495	0.460	Si
Total promedio		3.5	3.22	9.3	0.528	0.559	

Con base en la comparación de distancias genéticas pareadas (Tabla 2), se encontró la mayor diferenciación genética (Fst= 0.141) entre las poblaciones de Sierra Juárez y Sierra Cucapá, mientras que las poblaciones Sierra Juárez y Sierra San Pedro Mártir presentaron el valor de diferenciación más bajo (Fst= 0.58). Entre las tres poblaciones se encontró una diferenciación genética de baja a moderada (Wright, 1978), pero –estadísticamente significativa ($P<0.005$). Así mismo, el AMOVA indicó un mayor porcentaje de variación entre poblaciones cuando se utilizaron los tres grupos establecidos *a posteriori.*

Tabla 3.- Distancia genética pareada. Por arriba se muestran los valores de F_{st}. Por abajo los valores de significancia.

Población	Sierra Juárez	San Pedro Mártir	Cucapá
Sierra Juárez		0.058	0.141
San Pedro Mártir	0.0024		0.101
Sierra Cucapá	0.0000	0.0000	

Con base en el análisis implementado en COANCESTRY, el 31% de las diadas comparadas presentaron algún grado de parentesco. En parentesco de primer grado, el 90% de las relaciones se encontró dentro de la población de Cucapá, por ejemplo en el caso del individuo SC-03 que mantiene parentesco en primer grado con 6 individuos dentro de la misma población (SC-02, SC-04, SC-05, SC-06, SC-07 y SC-12). Así mismo, encontramos que SJ-05 se encuentra emparentado en primer nivel con SJ-06 y SJ-07; mientras que estos dos organismos mantienen un tercer grado de parentesco. De igual forma, en Cucapá se encontró la mayoría de las relaciones de segundo grado de parentesco (67%); seguida de la comparación entre las poblaciones de Sierra Juárez-Cucapá (19%). Específicamente, el organismo SJ-01 está emparentado en segundo nivel con SC-09 y CUC-11. A nivel de tercer grado, la distribución de la frecuencia es más o menos uniforme, con el valor más alto (29%) entre las poblaciones de Sierra Juárez-San Pedro Mártir; se encontró que los individuos SSPM-01, SSPM-02, SSPM-03 y SSPM-04 están emparentados en esta categoría con organismos pertenecientes a las tres diferentes poblaciones (Figura 3, Anexo3).

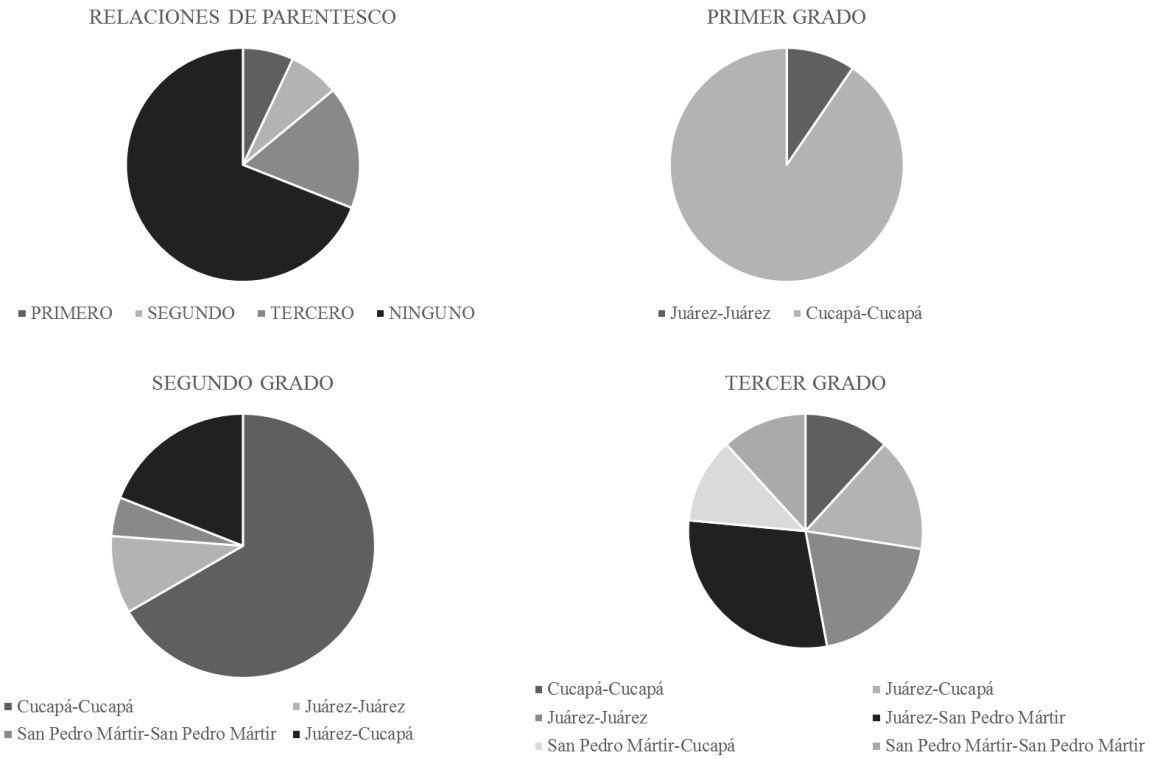

Figura 3.- Representación gráfica del análisis implementado en COANCESTRY.

Agrupación por grado de parentesco y por comparación entre poblaciones.

Finalmente, se encontraron diferencias significativas ($P<0.05$) en el promedio de parentesco entre las poblaciones, a excepción de la comparación realizada entre Sierra Juárez-San Pedro Mártir ($P>0.05$, Tabla 4).

Tabla 4.- Diferencias entre el promedio de parentesco entre poblaciones con base en el análisis TRIO ML implementado en COANCESTRY.

Población	Sierra Juárez	San Pedro Mártir	Cucapá
Sierra Juárez		P>0.05	
San Pedro Mártir	NO		P<0.05
Sierra Cucapá	SI	SI	P<0.05

DISCUSIÓN

Son pocos los trabajos relacionados con la diversidad genética y estructura poblacional que se han llevado a cabo en el área de estudio, abarcado principalmente la Sierra de Juárez (Buchalski et al. 2015) o los aspectos ecológicos y sociales de la especie (Eaton-González et al. 2017). El conocimiento de la diversidad genética actual, así como la estructura poblacional de borrego cimarrón, es de gran importancia para el contexto social-cinegético que enfrenta esta especie hoy en día.

El análisis genético a partir de muestras fecales es complicado ya que el ADN suele estar contaminado con restos de la dieta del animal, se encuentra en bajas cantidades o degradado (Maturrano 2012); aunque los protocolos de recolecta se han estandarizado en estudios previos (Epps et al. 2005), quizá sea necesario evaluar las diferencias de hábitat en Baja California y modificar el protocolo para cada sierra. No obstante, el uso de 25 loci de microsatélites nos permitió obtener valores bajos de PID y PID-$_{sibs}$, disminuyendo así la ambigüedad de confundir dos organismos con genotipos similares. En comparación con lo reportado en Buchlaski (2015), nosotros encontramos valores de PID menores, probablemente por un tamaño de muestra menor, aunque no se descarta la posibilidad de que existan alelos con mayor poder informativo que no se han explorado todavía en las poblaciones mexicanas.

Si bien, el tamaño de muestra en este estudio es pequeño, nuestros resultados aportan información valiosa que constituye la línea de base sobre la diversidad genética de las poblaciones en Baja California y su conectividad. Es posible que utilizando un menor número de microsatélites se hayan podido identificar un mayor número de organismos; no obstante,

se decidió dar prioridad al panel de 25 loci por su poder informativo así como su reproducibilidad.

La identificación de grupos genéticamente similares permite caracterizar la existencia de subpoblaciones y establecer el origen de los individuos en determinada población, así como movimientos migratorios entre ellas (Pritchard et al. 2000, Evanno et al. 2005). La asignación *a posteriori* de los organismos a tres grupos genéticamente diferenciados, nos permitió visualizar el grado de conectividad entre las poblaciones. Se observaron organismos en SJ genéticamente muy similares a los de SPM; este aspecto se puede explicar en función de la ausencia de barreras geográficas, ya que ambas sierras pertenecen al Escarpe Principal del Golfo (Días-Torres 2012). En contraste, Buchalski (2015) reporta dos grupos poblacionales para la zona fronteriza; nosotros encontramos que SJ pertenece a ambos grupos mientras que SC y SSPM están mayormente diferenciados al resto de los organismos identificados en estudios previos. No obstante, es necesario ampliar el número de muestras para estas dos sierras e incluirlas dentro de un análisis global para la zona de California y Baja California.

Los parámetros de diversidad encontrados para SJ, SPM y SC son similares a lo reportado en estudios anteriores al sur de California y la parte norte de Sierra Juárez para la misma especie (Buchalski et al. 2015) y para poblaciones en Sonora y Baja California Sur en México (Rodríguez et al. 2015). Estos valores indican baja diversidad genética para la especie en comparación con otras especies del mismo género (Worley et al. 2004, Feng et al. 2009, Ferreria et al. 2014). En las poblaciones de borrego cimarrón al sur del estado de California, la diversidad genética nuclear en poblaciones completamente aisladas por barreras antropogénicas ha declinado en un 15% en los últimos 40 años. Esta tasa de pérdida de

diversidad se debe a la reducción del tamaño efectivo poblacional asociado a la fragmentación del hábitat y la consecuente endogamia (Epps et al. 2005).

La abundancia estimada para los grupos Centro y Sur referidos en Buchalski (2015) fue de 100 a 200 organismos por grupo; con base en la observación directa de manadas así como el tamaño de muestra, se espera que las poblaciones mexicanas presenten un menor número de tamaño poblacional. Dicha cuestión resulta preocupante, ya que particularmente en el caso de borrego cimarrón, poblaciones menores a 100 individuos alcanzan a persistir solo hasta 70 años (Berger 1990). Aunado a este problema, la fragmentación de hábitat puede aumentar los niveles de endogamia y acelerar los procesos de extinción.

El equilibrio de Hardy-Weinberg encontrado en los tres grupos genéticos apoya la misma división de poblaciones. Este aspecto también se pudo inferir de los resultados obtenidos en el análisis de diferenciación genética y AMOVA, donde SJ y SC presentaron el valor más alto (Fst= 0.141). Por lo que la Laguna Salada, los asentamientos humanos, las carreteras y los generadores eólicos pueden estar influyendo en la estructura genética poblacional. Si bien, los valores aquí reportados son bajos, si este aislamiento continúa puede generar poblaciones con identidades genéticas completamente distintas. En 21 estudios sobre genética poblacional, se ha reportado que, específicamente las carreteras incrementan la diferenciación de poblaciones así como la distancia genética entre individuos (Holderegger y Di Giulio, 2010).

La presencia de 12 organismos emparentados en primer grado dentro de las poblaciones de SJ y SC sugiere que los grupos poblacionales se encuentran conformados por organismos estrechamente emparentados y que la migración entre poblaciones permite identificar relaciones de parentesco de primer, segundo y tercer nivel. Debido al difícil acceso

para la colecta de muestras fecales, así como la estructura de manadas altamente emparentadas, se debe considerar un posible sesgo; esto es, que la mayoría de las muestras ubicadas en la misma zona puedan pertenecer a una misma manada familiar. Por otro lado, la relación de tercer grado entre individuos en SJ, SC y SPM, indican que la conectividad y flujo génico ha ocurrido de forma histórica entre las tres zonas de estudio; posiblemente por la continuidad orográfica que presentan las 3 sierras. Cabe resaltar que la ausencia de individuos emparentados en primer grado en SSPM se puede deber a que las manadas son mucho más grandes que en las otras poblaciones, o que las muestras presentaron menor calidad debido a las condiciones climáticas, por lo que no se obtuvo una amplificación exitosa de los microsatélites. En adición, en SSPM no se observaron de manera directa manadas de borrego cimarrón, por lo que el muestreo pudo estar sesgado hacia unos cuantos individuos por zona.

El uso de microsatélites nos permite evaluar la conectividad poblacional a una escala temporal reciente, por lo que la baja a moderada estructura genética, así como las relaciones de parentesco estimadas entre las poblaciones indican que las posibles barreras identificadas en el área de estudio limitan el intercambio de organismos sólo de manera parcial. Aunque la migración de un solo organismo por generación resulta suficiente para mantener el flujo génico, propicia y aumenta la diferenciación entre los grupos después de varias generaciones (Gutiérrez-Espeleta et al. 2000). Sin embargo, la construcción de estructuras impermeables, como un muro fronterizo o las actividades industriales que se contemplan en la zona, tendrían un impacto negativo limitando aún más el flujo genético entre las metapoblaciones transfronterizas de borrego cimarrón.

La conectividad observada en este estudio, así como la continuidad del grupo genético de SJ hacia la zona de frontera con Estados Unidos se vería gravemente afectada por la construcción de un muro impermeable. Se reportan diversos estudios que señalan los impactos negativos que dicha construcción tendría sobre la fauna y vegetación de la zona (Cohn 2007, Moya 2007, McCain y Childs 2008, Flesch et al 2010, Lasky et al 2011). Específicamente en el caso de borrego cimarrón, se señala que en la zona fronteriza entre Sonora y Arizona, existen nueve poblaciones silvestres conectadas mediante la migración de individuos, especialmente machos. Esta estructura reduciría también la probabilidad de recolonización posterior a una extinción local (Flesch et al. 2010).

La interpretación de resultados para la caracterización de la estructura genética de poblaciones silvestres es complicada y puede verse influenciada por diversos factores como la historia de las poblaciones, un muestreo sesgado y no representativo, así como complicaciones logísticas conforme a cada especie (Discoll et al. 2015). Sin embargo, tomando esto en cuenta, nuestros resultados son equiparables con la subdivisión de grupos poblacionales o metapoblaciones reportadas para el área de estudio (Buchalski et al. 2015); así como con los niveles de diversidad previamente observados para la especie.

En conjunto, nuestros resultados nos permiten concluir que: (i) las poblaciones de borrego cimarrón al norte de Baja California presentan una subestructura poblacional conformada por tres grupos: SJ, SC y SPM. (ii) Aunque se reportan parámetros de diversidad bajos, estos valores son similares a lo encontrado en otras poblaciones de borrego cimarrón, posiblemente como consecuencia del aislamiento ocasionado por barreras humanas. (iii) Existe conectividad entre las tres poblaciones, observables en los tres niveles de parentesco; por lo que las barreras identificadas limitan de manera parcial migración de organismos, ya

que son estructuras con zonas no continuas. (iv) La construcción de estructuras impermeables o proyectos de industrialización, tendrán un impacto negativo en la migración de organismos, teniendo como consecuencia el aumento de la endogamia y la disminución de la diversidad genética de las poblaciones.

Implicaciones en el manejo

Hasta ahora, el debate político en cuanto a la construcción de un muro fronterizo, se ha enfocado principalmente en el paso de inmigrantes y el narcotráfico. Se ha revisado muy poco las consecuencias que esto puede tener para la vida silvestre (Cohn 2007). Si bien, la mejor forma de evitar los impactos y la fragmentación de hábitat, es evitando la construcción de una frontera impermeable, algunas posibles soluciones están enfocadas en el establecimiento de sitios prioritarios de conectividad para la fauna o corredores ecológicos (Moya 2007). Nuestros resultados, así como en estudios previos, resaltan la importancia del diseño de corredores biológicos que mantengan la conexión de las metapoblaciones de borrego (Bleich et al. 1990; Gutíerrez-Espeleta et al. 2000; Epps et al. 2005, 2007; Driscoll et al. 2015). Ya que las barreras antropogénicas, como el muro fronterizo, pueden tener severas consecuencias tanto a nivel demográfico como genético, incrementando el riesgo de extinción de las mismas (Epps et al. 2005).

Se recomienda la priorización de la conectividad poblacional como estrategia de manejo y conservación para la especie en la zona norte de Baja California, ya que el flujo genético permite que los procesos de selección natural tengan influencia sobre las poblaciones naturales; permanezcan los alelos potenciales a la adaptación local y resistencia a enfermedades, así como la identidad genética de las metapoblaciones. Evidencias directas en campo así como fotografías de cámaras trampas ubican organismos marcados en Estados

Unidos en territorio mexicano; por lo que la construcción de dichos corredores deberían localizarse en la zona del aguaje que conecta la carretera federal 2 en Mexicali con California.

Por otro lado, se encontró baja diversidad genética en las poblaciones silvestres de SJ, SMP y SC en contraste con lo reportado para poblaciones en las Montañas Rocky en el norte-centro de Colorado en Estados Unidos, donde las estrategias de manejo involucran la translocación de organismos entre poblaciones cercanas (Driscoll et al. 2015). La implementación de estrategias para el manejo de borrego cimarrón que contemplen el intercambio de organismos, puede resultar en aumento de la diversidad genética de las poblaciones aisladas por el crecimiento y desarrollo urbano (Gutierrez-Espelata et al. 2000). De acuerdo con la similitud genética encontrada entre las poblaciones de SJ y SC, se recomienda que las políticas de manejo consideren como última instancia el movimiento de organismos con base en dicha similitud; de manera que se preserve la variación local así como las adaptaciones potenciales que puedan tener las poblaciones (Gutiérrez-Espeleta et al. 2000).

Es necesario continuar la investigación en la zona para la identificación de diferentes alelos o poblaciones que quizá no fueron muestreadas; así como la determinación de rutas migratorias, principalmente entre las poblaciones de SJ y SC, ya que es probable que los organismos utilicen la zona fronteriza con Estados Unidos como única ruta de desplazamiento evitando las condiciones climáticas y orográficas de la Laguna Salada, como se ha observado mediante el uso de cámaras trampa. Además es importante llevar a cabo una estimación del tamaño poblacional para la implementación de estrategias de manejo que permitan la persistencia de las poblaciones en un futuro mayor a 70 años. En México, al igual que en Estados Unidos, se debe asegurar que la fauna, en este caso el borrego cimarrón, se

mantenga en ambos lados de la frontera. Aspecto que podrá resolverse, mediante la construcción de acuerdos binacionales sobre la resolución de los principales problemas que enfrentan los países y no mediante la construcción de un muro (List 2007).

LITERATURA CITADA

- Álvarez, J., J. M. Camacho, V. I. Gallardo, G. Macías, y D. Herrera. 2012. Características geológicas preliminares de la nueva zona termal Cucapah en el Valle de Mexicali, BC, México. Geotermia 25:2.
- Ayala, S. 2003. 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.
- Berger, J. 1982. Female breeding age and lamb survival in desert bighorn sheep (*Ovis canadensis*). Mammalia 46(2):183-190.
- Berger, J. 1990. Persistence of different-sized populations: an empirical assessment of rapid extinctions in bighorn sheep. Conservation Biology 4(1):91-98.
- Buchalski, M. R., A. Y. Navarro, W. M. Boyce, T. Winston, M. W. Tobler, L. A. Nordstrom, J. Alaníz, D. A. Gille, M. C. Penedo, O. A. Ryder, y H. B. Ernest. 2015. Genetic population structure of Peninsular bighorn sheep (*Ovis canadensis nelsoni*) indicates substantial gene flow across US-Mexico border. Biological Conservation 184:218-228.
- CITES. 2017. Appendices I, II and III. Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora. UNEP.
- Cohn, J. P. 2007. The Environmental Impacts of a Border Fence. BioScience 57:1
- Devlin, B., y N. C. Ellstrand. 1990. The development and application of a refined method for estimating gene flow from angiosperm paternity analysis evolution. Evolution 44(2):248-259.

- Diaz-Torres, J. J., J. M. Fletcher, R. M. Spelz-Madero, A. Martín-Barajas, y F. Suárez-Vidal. 2012. Geomorfometría del Escarpe Principal del Golfo de California. Análisis comparativo entre dos segmentos del rift: San Pedro Mártir y Sierra Juárez, Baja California, México. Revista Mexicana de Ciencias Geológicas 29(3):590-610.
- Driscoll, C. C., J. G, Driscoll, C. Hazekamp, J. B. Mitton, y J. D. Wehausen. 2015. A tale of two markers: Population genetics of Colorado Rocky Mountain Bighorn sheep estimated from microsatellite and mitochondrial data. Journal of Wildlife Management 79(5):819-831.
- Earl, D. A., y B. M. vonHoldt. 2012. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. Conservation Genetics Resources 4:359-361.
- 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.
- Eaton-González, R., A. A. Guevara, J. Tapia-Mercado, editores. 2017. Estudios sobre el borrego cimarrón en el noreste de México. Universidad Autónoma de Baja California Press. México.
- Epps, C. W., P. J. Palsboll, J. D. Wehausen, G. K. Roderick, R. R. Ramey, y D. R. McCullough. 2005. Highways block gene flow and cause a rapid decline in genetic diversity of desert bighorn sheep. Ecology Letters 8:1029-1038.

- Epps, C. W., J. D. Wehausen, P. J. Palsboll, y D. R. McCullough. 2010. Using genetic tools to track desert bighorn sheep colonizations. Journal of Wildlife Management 74(3):522-531.
- 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. Thesis, Autonomous University of Baja California, Mexico.
- 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., y H. E. Lischer. 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. Molecular Ecology Resources 10:564-567.
- Feng, J., M. R. Frisina, M. S. Webster, y G. Ulziimaa. 2009. Genetic differentiation of argali sheep *Ovis ammon* in Mongolia revealed by mitochondrial control region and nuclear microsatellites analyses. Journal of the Bombay History Society 106(1):38-44.
- Ferrerira, J. S., S. R. Paiva, E. C. Silva, C. M. McManus, A. R. Caetano, D. A. Façanha, y M. A. Sousa. 2014. Genetic diversity and population structure of different varieties of Morada Nova hair sheep from Brazil. Genetics and Molecular Research 13(2):2480-2490.
- Festa-Bianchet, M. 2008. Ovis canadensis. The IUCN Red List of Threatened Species. e.T15735A5075259 < http://www.iucnredlist.org/details/15735/0 > Accessed 17 May 2017.

- Flesch, A. D., C. W. Epps, J.W. Cain III, M. Clark, P. Krausman, y J. R. Morgart. Potential Effects of the United States-Mexico Border Fence on Wildlife. Conservation Biology 24(1):171-181.
- Galindo M.M. 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. 120(11):3- 126.
- González R. J. 2006. Análisis Histológicos de Borrego Cimarrón (*Ovis canadensis*) en Baja California y Sonora, México. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California.
- Goudet, J. 2001. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Disponible en http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm Actualizado de Goudet (1995).
- Gutiérrez-Espeleta, G.A., S. T. Kalinowski, W. M. Boyce, y P. W. Hedrick. 2000. Genetic variation and population structure in desert bighorn sheep: implications for conservation. Conservation Genetics 1:3-15.
- Holderegger, R., y M. Di Giulio. 2010. The genetic effects of roads: A review of empirical evidence. Basic and Applied Ecology. 11:522-531.
- Holsinger, K. E., y Weir, B. S. 2009. Genetics in geographically structured populations: defining, estimating and interpreting *F*st. Fundamental Concepts in Genetics. Nature Reviews 10:639-650.

- Lasky, J. R., W. Jetz, y T. H. Keitt. 2011. Conservation biogeography of the US-Mexico border: a transcontinental risk assessment of barriers to animal dispersal. Diversity and Distributions 17:673-687

- List, R. 2007. Los impactos del muro fronterizo sobre los mamíferos silvestres. Páginas 77-86 en A. Córdova and C.A. de la Parra, editores. Una barrera a nuestro ambiente compartido: el muro fronterizo entre México y Estados Unidos. México: Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales Press.
- Maturrano, L., J. M. Aguila, P. Kruger, J. Chávez, R. Rosadio, y J. C. Wheeler. 2012. Optimización de una técnica para la extracción de ADN de heces fecales de vicuña (*Vicugna vicugna mensalis*). Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú 23(3):369-376.
- McCain, E. B., y J. L. Childs. 2008. Evidence of Resident Jaguars (*Panthera onca*) in the Southwestern United States and the Implications for Conservation. Journal of Mammalogy 89(1):1-10.
- Moya, H. 2007. Posibles impactos de la construcción y operación del muro fronterizo sobre la fauna. Páginas 65-69 en A. Córdova and C.A. de la Parra, editores. Una barrera a nuestro ambiente compartido: el muro fronterizo entre México y Estados Unidos. México: Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales Press.
- Navarro, M. C. y D. A. Ambriz. 2008. El borrego cimarrón: Una especie amenazada por la ignorancia del hombre. ContactoS 69:16-22.

- Olson, K. A. 2014. Saiga Crossing Options: Guidelines and recommendations to mitigate barrier effects of border fencing and railroad corridors on saiga antelope in Kazakhstan. Smithsonian Conservation Biology Institute.
- Orisini, L., J. Vanoverbeke, I. Swillen, J. Mergey, y L. De Meester. 2013. Drivers of population genetic differentiation in the wild: isolation by dispersal limitation, isolation by adaptation and isolation by colonization. Molecular Ecology 22:5983-5999.
- Paetkau D., y C. Strobeck. 1994. Microsatellite analysis of genetic variation in black bear populations. Molecular Ecology 3:489-495.
- Peakall R., y P. E. Smouse. 2006. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. Bioinformatics Applications Note 28(19):2537-2539.
- Peinado, M., C. Bartolomé, J. Delgadillo, y I. Aguado. 1994. Pisos de vegetación de la Sierra de San Pedro Mártir, Baja California, México. Acta Botánica Mexicana 29:1-30.
- Pritchard, J. K., M. Stephens, y P. Donelly. 2000. Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. Genetics 155:945-959.
- Raymond M., y F. Rousset. 1995. GENEPOP v1.2: population genetics software for exact tests and ecumenicism. Heredity 86(3):248-249.
- Riemann, H. 2007. Riesgos ecológicos de la construcción del muro fronterizo. Páginas 107-115 in A. Córdova and C.A. de la Parra, editores. Una barrera a nuestro ambiente compartido: el muro fronterizo entre México y Estados Unidos. México: Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales Press.

- Rodríguez-Rodríguez, M. A., J. Gasca-Pineda, R. A. Medellín, y L. E. Eguiarte. 2015. Analysis of genetic diversity of bighorn sheep (Ovis canadensis) from Mexican populations. Journal of Mammalogy 96(3): 473-480.
- Selkoe, K. A., y R. J. Toonen. 2006. Microsatellites for ecologists; a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. Ecology Letters 9:615-629.
- SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2000. Proyecto para la Conservación, Manejo y Aprovechamiento Sustentable del Borrego Cimarrón (Ovis canadensis) en México. Páginas 17-18.
- SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2010. Norma Oficial Mexicana NOM–059–ECOL–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. Diario Oficial de la Federación, segunda sección.
- SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2015. Manifestación de Impacto Ambiental, modalidad Regional: Proyecto Integral EcoZoneMX. Viz Resource Management S. A. DE V. C. Páginas 2-283.
- SENER (Secretaría de Energía). 2016. Programa de Desarrollo del Sistema Eléctrico Nacional. PRODESEN 2016-2030. Páginas 111-114.
- Su, H., L-J. Qu, K. He, Z. Zhang, J. Wang, Z. Chen, y H. Gu. 2003. The Great Wall of China: a physical barrier to gene flow? Heredity 90:212-219.
- Taberlet, P., S. Griffin, B. Goossens, S. Questiau, V. Manceau, N. Escaravage, L. Waits, y J. Bouvet. 1996. Reliable genotyping of samples with very low DNA quantities using PCR. Nucleic Acids Research 24(16):3189-3194.

- Tapia, A., y M. A. Magaña. 2014. Registros históricos de la cinegética en Baja California: prácticas culturales de cazadores indígenas y deportivos. Letras Históricas 9:227-250.
- Wang, J. 2011. COANCESTRY: a program for simulating, estimating and analyzing relatedness and inbreeding coefficients. Molecular Ecology Resources 11:141-145.
- Wehausen, J. D., y R. R. Ramey II. 2000. Cranial morphometric and evolutionary relationships in the northern range of Ovis canadensis. Journal of Mammalogy 81(1):145-161.
- Wehausen, J. D., R. R. Ramey II, y C. W. Epps. 2004. Experiments in DNA extraction and PCR amplification from bighorn sheep feces: the importance of DNA extraction method. Heredity 95(6):503-509.
- Worley, K., C. Stronbeck, S. Arthur, J. Carey, H. Scwantje, A. Veitch, y D. W. Coltman. 2004. Population genetic structure of North American thinhorn sheep (Ovis dalli). Molecular Ecology 13:2545-2556.
- Wright, S. 1978. Volume 4. Variability within and among natural populations. Páginas 82-89 in Evolution and the genetics of populations. The University of Chicago Press.
- Zbicz, D. C. 2003. Imposing transboundary conservation: Cooperation between internationally adjoining protected areas. Sustainable Forestry 17:(1-2)

ANEXOS

Anexo 1.- Probabilidad de identidad para cada locus y su aditivo.

Locus	Combinación aditiva de locus	Probabilidad de Identidad
OarCP49	**1**	3.1E-01
MAF65	**1+2**	6.1E-02
MAF48	**1+2+3**	1.5E-02
HSC	**1+2+3+4**	7.9E-04
BMC1009	**1+2+3+4+5**	5.5E-04
BM203	**1+2+3+4+5+6**	4.3E-05
BM4311	**1+2+3+4+5+6+7**	7.5E-06
BM4513	**1+2+3+4+5+6+7+8**	1.8E-06
SPS113	**1+2+3+4+5+6+7+8+9**	6.1E-07
OarFCB304	**1+2+3+4+5+6+7+8+9+10**	4.2E-07
SPS115	**1+2+3+4+5+6+7+8+9+10+11**	1.4E-07
BMS2270	**1+2+3+4+5+6+7+8+9+10+11+12**	1.2E-08
McM527	**1+2+3+4+5+6+7+8+9+10+11+12+13**	4.1E-09
TGLA126	**1+2+3+4+5+6+7+8+9+10+11+12+13+14**	4.7E-10
INRA133	**1+2+3+4+5+6+7+8+9+10+11+12+13+14+15**	1.5E-10
INRA05	**1+2+3+4+5+6+7+8+9+10+11+12+13+14+15+16**	2.9E-11
OarAE129	**1+2+3+4+5+6+7+8+9+10+11+12+13+14+15+16+17**	1.9E-12
BM1225	**1+2+3+4+5+6+7+8+9+10+11+12+13+14+15+16+17+18**	1.1E-12
MAF214	**1+2+3+4+5+6+7+8+9+10+11+12+13+14+15+16+17+18+19**	7.5E-14
CSRD247	**1+2+3+4+5+6+7+8+9+10+11+12+13+14+15+16+17+18+19+20**	1.1E-14
OarCP26	**1+2+3+4+5+6+7+8+9+10+11+12+13+14+15+16+17+18+19+20+21**	1.9E-15
FCB193	**1+2+3+4+5+6+7+8+9+10+11+12+13+14+15+16+17+18+19+20+21+22**	4.8E-16
ETH152	**1+2+3+4+5+6+7+8+9+10+11+12+13+14+15+16+17+18+19+20+21+22+23**	1.2E-16
MAF36	**1+2+3+4+5+6+7+8+9+10+11+12+13+14+15+16+17+18+19+20+21+22+23+24**	1.1E-17
MAF209	**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**	1.7E-18

Anexo 2.- Frecuencia de alelos en cada población.

Locus	Alelos	SSJ	SSPM	SC	Locus	Alelos	SSJ	SSPM	SC
OarCP49	76	0.188	0.000	0.000	INRA133	224	0.125	0.100	0.000
	78	0.188	0.600	0.792		228	0.125	0.200	0.083
	80	0.625	0.400	0.208		230	0.688	0.400	0.875
MAF65	117	0.563	0.900	0.375		232	0.063	0.300	0.042
	119	0.000	0.000	0.125	INRA05	126	0.125	0.000	0.000
	125	0.125	0.000	0.042		136	0.250	0.200	0.000
	127	0.125	0.100	0.000		138	0.188	0.500	0.917
	131	0.188	0.000	0.458		140	0.188	0.000	0.000
MAF48	124	0.688	0.500	0.542		142	0.188	0.200	0.083
	126	0.313	0.000	0.292		144	0.000	0.100	0.000
	128	0.000	0.500	0.167		146	0.063	0.000	0.000
HSC	273	0.250	0.000	0.042	OarAE129	168	0.188	0.300	0.000
	277	0.063	0.000	0.000		170	0.125	0.100	0.083
	279	0.000	0.100	0.000		176	0.188	0.100	0.167
	281	0.125	0.200	0.000		178	0.250	0.100	0.042
	283	0.375	0.300	0.125		184	0.125	0.400	0.125
	285	0.000	0.100	0.000		186	0.125	0.000	0.583
	289	0.000	0.200	0.333	BM1225	243	0.813	1.000	0.833
	297	0.188	0.100	0.292		253	0.063	0.000	0.000
	299	0.000	0.000	0.208		261	0.125	0.000	0.167
BMC1009	274	0.125	0.200	0.042	MAF214	201	0.125	0.200	0.458
	280	0.875	0.800	0.958		203	0.125	0.000	0.208
BM203	221	0.000	0.300	0.208		205	0.000	0.000	0.167
	223	0.000	0.000	0.083		207	0.000	0.100	0.000
	227	0.250	0.100	0.042		209	0.438	0.500	0.042
	229	0.000	0.000	0.167		211	0.188	0.100	0.000
	237	0.063	0.000	0.000		213	0.125	0.000	0.083
	241	0.313	0.600	0.125		221	0.000	0.100	0.042
	243	0.375	0.000	0.375	CSRD247	209	0.063	0.100	0.083
BM4311	92	0.250	0.600	0.500		213	0.438	0.500	0.208
	96	0.188	0.100	0.292		217	0.000	0.000	0.292
	98	0.125	0.000	0.000		221	0.438	0.400	0.375
	102	0.438	0.300	0.208		223	0.063	0.000	0.042
BM4513	130	0.125	0.000	0.083	OarCP26	139	0.063	0.100	0.125
	132	0.813	0.800	0.292		147	0.188	0.100	0.000
	134	0.000	0.000	0.083		149	0.188	0.200	0.250
	144	0.063	0.100	0.542		151	0.500	0.400	0.625
	146	0.000	0.100	0.000		155	0.063	0.200	0.000
SPS113	140	0.375	0.900	0.333	FCB193	106	0.125	0.300	0.292
	146	0.000	0.100	0.000		112	0.500	0.700	0.667
	148	0.625	0.000	0.667		114	0.250	0.000	0.000
OarFCB304	138	0.875	0.800	0.958		116	0.125	0.000	0.042
	140	0.125	0.200	0.042	ETH152	199	0.000	0.200	0.000
SPS115	238	0.063	0.100	0.000		207	0.500	0.700	0.625
	242	0.375	0.200	0.417		209	0.375	0.000	0.292
	246	0.563	0.700	0.583		211	0.063	0.100	0.000
BMS2270	72	0.063	0.200	0.083		215	0.063	0.000	0.083
	74	0.250	0.100	0.625	MAF36	93	0.375	0.600	0.333
	76	0.250	0.000	0.125		101	0.125	0.000	0.375
	78	0.375	0.100	0.042		103	0.188	0.000	0.083
	80	0.063	0.300	0.125		105	0.125	0.100	0.083
	82	0.000	0.300	0.000		109	0.063	0.200	0.125
McM527	158	0.625	0.500	0.833		111	0.125	0.100	0.000
	166	0.125	0.300	0.042	MAF209	113	0.250	0.700	0.417
	170	0.250	0.200	0.125		115	0.125	0.100	0.083
TGLA126	112	0.000	0.100	0.000		117	0.063	0.000	0.083
	116	0.125	0.000	0.000		119	0.063	0.000	0.000
	118	0.250	0.200	0.583		121	0.500	0.100	0.375
	120	0.063	0.400	0.042		123	0.000	0.100	0.042
	128	0.000	0.000	0.333					
	130	0.563	0.300	0.042					

Anexo 3.- Grado de parentesco entre cada comparación de individuos con base en TRIO ML implementado en COANCESTRY.

Individuo 1	Individuo 2	TRIO ML	Grado de parentesco	Individuo 1	Individuo 2	TRIO ML	Grado de parentesco
SJ-05	SJ-06	0.3624	PRIMERO	SJ-02	SSPM-05	0.0356	TERCERO
SJ-05	SJ-07	0.2875	PRIMERO	SJ-02	SC-01	0.1366	TERCERO
SC-01	SC-04	0.5969	PRIMERO	SJ-02	SC-08	0.0418	TERCERO
SC-02	SC-03	0.5424	PRIMERO	SJ-03	SJ-05	0.0334	TERCERO
SC-03	SC-04	0.5457	PRIMERO	SJ-03	SJ-06	0.0593	TERCERO
SC-03	SC-05	0.553	PRIMERO	SJ-03	SJ-07	0.5282	TERCERO
SC-03	SC-06	0.2284	PRIMERO	SJ-03	SJ-08	0.0537	TERCERO
SC-03	SC-07	0.5519	PRIMERO	SJ-03	SSPM-01	0.1657	TERCERO
SC-03	SC-12	0.4107	PRIMERO	SJ-03	SSPM-02	0.1899	TERCERO
SC-04	SC-05	0.527	PRIMERO	SJ-03	SC-08	0.0249	TERCERO
SC-04	SC-06	0.5178	PRIMERO	SJ-03	SC-12	0.0199	TERCERO
SC-04	SC-07	0.5173	PRIMERO	SJ-04	SJ-05	0.0188	TERCERO
SC-04	SC-08	0.4135	PRIMERO	SJ-04	SSPM-05	0.048	TERCERO
SC-04	SC-12	0.3529	PRIMERO	SJ-04	SC-10	0.1465	TERCERO
SC-05	SC-06	0.4699	PRIMERO	SJ-05	SSPM-01	0.1123	TERCERO
SC-05	SC-07	0.5605	PRIMERO	SJ-06	SJ-07	0.1797	TERCERO
SC-05	SC-08	0.232	PRIMERO	SJ-06	SSPM-02	0.0154	TERCERO
SC-06	SC-07	0.4814	PRIMERO	SJ-06	SSPM-03	0.05	TERCERO
SC-06	SC-08	0.4571	PRIMERO	SJ-06	SSPM-04	0.0192	TERCERO
SC-07	SC-08	0.4496	PRIMERO	SJ-07	SSPM-02	0.1982	TERCERO
SC-09	SC-11	0.4392	PRIMERO	SJ-07	SSPM-03	0.0356	TERCERO
SJ-01	SJ-04	0.3384	SEGUNDO	SJ-07	SSPM-04	0.0301	TERCERO
SJ-01	SC-09	0.1863	SEGUNDO	SJ-08	SSPM-01	0.0476	TERCERO
SJ-01	SC-11	0.3207	SEGUNDO	SJ-08	SSPM-03	0.0948	TERCERO
SJ-02	SJ-05	0.0931	SEGUNDO	SJ-08	SSPM-05	0.0703	TERCERO
SJ-04	SC-09	0.4249	SEGUNDO	SJ-08	SC-02	0.0588	TERCERO
SJ-04	SC-11	0.4805	SEGUNDO	SJ-08	SC-08	0.0698	TERCERO
SSPM-02	SSPM-05	0.2821	SEGUNDO	SJ-08	SC-11	0.0801	TERCERO
SC-01	SC-02	0.3535	SEGUNDO	SSPM-01	SSPM-02	0.1581	TERCERO
SC-01	SC-03	0.2367	SEGUNDO	SSPM-01	SSPM-03	0.138	TERCERO
SC-01	SC-05	0.3479	SEGUNDO	SSPM-01	SSPM-05	0.1197	TERCERO
SC-01	SC-06	0.4889	SEGUNDO	SSPM-01	SC-09	0.0079	TERCERO
SC-01	SC-07	0.3458	SEGUNDO	SSPM-02	SSPM-03	0.0581	TERCERO
SC-01	SC-08	0.299	SEGUNDO	SSPM-02	SSPM-04	0.0728	TERCERO
SC-01	SC-12	0.3176	SEGUNDO	SSPM-02	SC-09	0.0411	TERCERO
SC-02	SC-06	0.3981	SEGUNDO	SSPM-02	SC-10	0.1512	TERCERO
SC-02	SC-07	0.5346	SEGUNDO	SSPM-03	SSPM-05	0.0535	TERCERO
SC-03	SC-08	0.2729	SEGUNDO	SSPM-03	SC-02	0.0424	TERCERO
SC-05	SC-12	0.3315	SEGUNDO	SSPM-04	SC-07	0.0281	TERCERO
SC-07	SC-12	0.2404	SEGUNDO	SSPM-04	SC-09	0.0424	TERCERO
SC-08	SC-12	0.2916	SEGUNDO	SC-02	SC-04	0.1707	TERCERO
SC-10	SC-11	0.2144	SEGUNDO	SC-02	SC-08	0.1862	TERCERO
SJ-01	SJ-06	0.0196	TERCERO	SC-02	SC-12	0.112	TERCERO
SJ-02	SJ-03	0.0825	TERCERO	SC-03	SC-09	0.046	TERCERO
SJ-02	SJ-07	0.0485	TERCERO	SC-09	SC-10	0.1312	TERCERO
SJ-02	SJ-08	0.1303	TERCERO	SC-10	SC-12	0.0438	TERCERO
SJ-02	SSPM-01	0.0269	TERCERO				