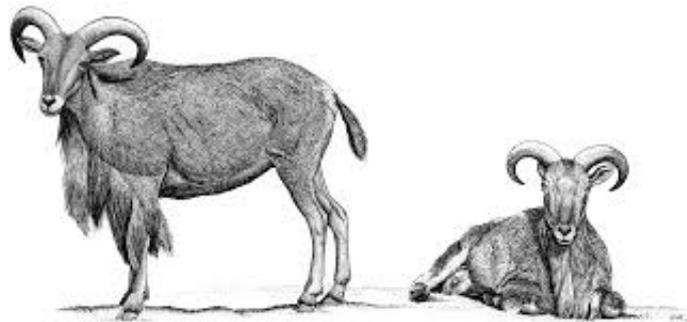


**Diversidad genética y filogeografía del arruí
(*Ammotragus lervia*) y urial (*Ovis orientalis*) en una
finca privada de Jordania.**



***Amanda García del Rincón Garoz*¹**

Orientadores: Christian Gortázar Schmidt² y Paulo Célio Alves³

¹Instituto de Investigación de Recursos Cinegéticos (IREC), Ciudad Real, España

²SaBio Grupo de Investigación, Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos IREC (CSIC-UCLM-JCCM, Ronda de Toledo s/n, 13071 Ciudad Real, España.

³CIBIO/InBIO, Centro de Investigación en Biodiversidad y Recursos Genéticos, Universidad de Porto, Campus Agrario de Vairão, 4485-661 Vairão, Portugal.

Resumen: Al largo de los últimos años los marcadores moleculares se han tornado herramientas muy importantes en la gestión y conservación de especies manejadas y amenazadas. Utilizando un panel de microsatélites y el gen CytB del ADN mitocondrial, en este estudio se evaluó la diversidad genética y la filogeografía de dos especies de ungulados silvestres, arruí (*Ammotragus lervia*) y urial (*Ovis vignei*), introducidas en una finca privada de Jordania. Ambas poblaciones presentaron niveles moderados/elevados de diversidad genética cuando comparados con las poblaciones control. Se identificaron dos líneas maternas divergentes del ADN mitocondrial en ambas poblaciones, sugiriendo la presencia de dos subespecies distintitas en la finca para cada especie. Estos resultados sugieren que individuos procedentes de por lo menos dos región distintas fueran introducidos en la finca para cada una de las especies analizadas y que el posible cruzamiento de estos individuos diferenciados resultó en valores de diversidad genética que tienden a asegurar la viabilidad de las poblaciones en el futuro, aunque con impactos desconocidos en las subespecies.

Palabras clave: genética poblacional, variabilidad genética, gestión de ungulados.

Introducción

Los seres humanos han obtenido beneficios de los animales desde el comienzo de nuestra especie (Burney & Flannery, 2005), desde de la caza hasta el punto de manejar las poblaciones y seleccionarlas para determinadas características. Uno de los principales impactos causados por el hombre, y que supone una amenaza menos evidente que la extinción directa de las poblaciones/especies, esta relacionado con los cambios genéticos. La reducción del tamaño efectivo de las poblaciones debido a la intensa cosecha y/o selección fenotípica puede llevar a la pérdida de la variabilidad genética y por consecuencia la pérdida de la capacidad adaptativa de las poblaciones en el futuro, como por ejemplo, asociado a los cambios climáticos (Allendorf and Luikart 2007). Además, la pérdida de variación genética puede reducir la productividad de las poblaciones explotadas (Ryman, N. et al. 1995) como consecuencia de la caída de la eficacia biológica, derivada del fenómeno conocido como depresión por consanguinidad y expresada en un descenso de ciertos factores como la fertilidad, el vigor, la resistencia a enfermedades, etc (Álvarez-Ortí, M. et al. 1999). Por lo tanto, es primordial evaluar la diversidad genética de las poblaciones, principalmente de las manejadas y amenazadas, utilizando los marcadores moleculares y metodologías actualmente disponibles.

De los diversos marcadores nucleares descritos en los últimos años (Defaveri et al. 2013), los microsatélites (marcadores nucleares neutrales) son actualmente los más comúnmente usados (Guichoux et al. 2011). Los microsatélites, también conocidos por secuencias simples repetidas (SSRs por sus siglas en inglés: “*simple sequence repeats*”), son secuencias de ADN constituidas por repeticiones en tándem de bloques de secuencias de 1 a 6 nucleótidos (Hancock, 1999) que se caracterizan por ser altamente polimórficos (Zane et al. 2002). Esta característica confiere a los microsatelites un gran poder informativo en diversas cuestiones, como en la determinación del “pedigree” de los animales (e.g Walling et al. 2010), en casos forenses (e.g. Socratous et al. 2009; Szabolcsi et al. 2008) asignación de individuos a poblaciones (e.g. Guillot et al. 2005; Piry et al. 2004; Pritchard et al. 2000) y cuantificación del grado de diversidad de las poblaciones (e.g. grado de consanguinidad) (e.g. Hartl et al. 2003). Por su parte el ADN mitocondrial es muy frecuentemente usado en estudios de distribución haplotípica en el

espacio geográfico (estudios filogeográficos) (e.g. Randi et al. 2001), permitiendo estudiar los patrones maternos de evolución de las especies así como permite detectar individuos introducidos y/o híbridos de poblaciones exóticas en las poblaciones naturales, teniendo un patrón natural para la especie (e.g. Pérez-Espona 2008). De entre los marcadores mitocondriales, el gen citocromo b (CytB) es el más conocido y ampliamente secuenciado hasta la fecha para los vertebrados (Irwin, D. M. et al 1991; Lydeard & Roe 1997; Moore & DeFilippis 1997), .

El **arruí**, auodad o Barbary sheep (*Ammotragus lervia*, Pallas 1777) es un mamífero perteneciente a la familia de los bóvidos, relacionado filogenéticamente con la cabra y la oveja (Arif, I. A. et al 2012). Se han descrito seis subespecies (Ansell, 1972) en las que las diferencias morfológicas no están bien definidas y hay bastantes zonas de aparente hibridación, por lo que se necesita urgentemente una reestructuración de las subespecies (Casinello, J. 2013). Su distribución natural está condicionada por terrenos accidentados y montañosos de desiertos y semidesiertos de bosques abiertos del Norte de África (**Figura 1**).

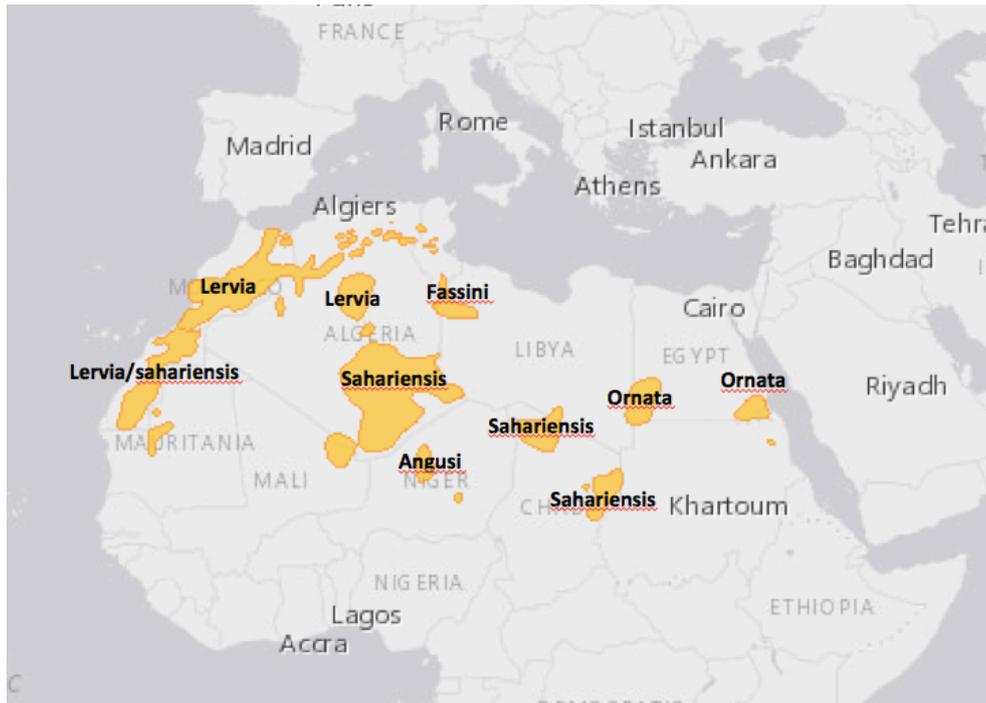


Figura 1. Mapa de distribución natural de las subespecies de arruí.

Las seis subespecies son: ***Ammotragus lervia lervia*** (auodad del Atlas), que se encuentra en las montañas de Marruecos (exceptuando la mitad occidental

del Rif) y el Norte de Argelia y Túnez; ***A. I. ornata*** (aoudad egipcio), el cuál se creía extinto en el desierto de Egipto (Amer, 1997), pero se han encontrado evidencias de su presencia en el Área Protegida de Elba y el Desierto Occidental entre 1997 y 2000 (Manlio et al, 2003); ***A. I. blainei*** (aoudad de Kordofán), actualmente se encuentra en las colinas del Mar Rojo al Este de Sudán (Nimir, 1997), en las montañas de Ennedi y Uweinat en el Noreste de Chad (Alados et al. 1988) y en Libia; ***A. I. fassini*** (aoudad libio), únicamente en el extremo Sur de Túnez y Libia; ***A. I. angusi*** (aoudad de Aïr), en los macizos de Aïr y Termit (Níger); y por último, ***A. I. sahariensis***, (aoudad del Sáhara), es la subespecie más ampliamente distribuida, incluyendo el Sur de Marruecos y el Oeste del Sáhara, Sur de Argelia, Suroeste de Libia, Sudán, las montañas de Adrar de Iforas en Mali, Nigeria, Mauritania y el macizo Tibesti. El arruí ha sido introducido en Estados Unidos, Norte de Méjico en 1930 y España [en la península y en las Islas Canarias (La Palma)] en 1970 (Gary y Simpson, 1980). Según la IUCN, se encuentra en la categoría Vulnerable C1 debido a la caza furtiva, la destrucción del hábitat por el pastoreo, la recolección de leña, la sequía y la desertificación y por la competencia del abastecimiento doméstico. Las subespecies del arruí no están genéticamente caracterizadas (**Figura 2**).



Figura 2. Macho y hembra de arruí (Fuente: http://www.fgcsc.es/fychnos/es_es/articulos/paisaje-en-mosaico-del-mediterraneo-y-su-supervivencia)

El **urial** (*Ovis vignei*, Blyth 1841 u *Ovis orientalis*, Gmelin 1774) (**Figura 4**) pertenece al género *Ovis*. Esta especie se encuentra introducida en Afganistán, donde se conoce como Urial o Arkal y, posiblemente, en Omán; y



Figura 4. Macho de urial (Fuente: <http://fuckyeahungulates.tumblr.com/post/38321864429/urial-ovis-orientalis-vignei>)

El principal objetivo de este estudio fue analizar la historia demográfica y evolutiva de dos poblaciones de ungulados silvestres introducidos en una finca privada de Jordania – el arruí y urial. A través del uso de marcadores moleculares (microsatélites y ADN mitocondrial) y su interpretación en base a los fundamentos de genética poblacional y filogeografía se tenía como objetivo evaluar los niveles de diversidad genética de las dos poblaciones, así como inferir el posible origen de los individuos. Todo esto, teniendo en cuenta la manutención de la viabilidad de las poblaciones en el futuro, asegurando una elevada variabilidad genética de las poblaciones.

Material y métodos

Área de estudio y especies muestreadas

El área de estudio se centra en una finca privada de caza mayor en Jordania (**Figura 5**). Esta finca se caracteriza por una producción de una gran variedad de especies exóticas para la caza, entre ellas el arruí (*Ammotragus lervia*) y el urial (*Ovis vignei*). Debido al hecho de no existir valores de diversidad genética (i.e. para comparación) de otras poblaciones de arruí y urial en la literatura, se muestrearon además en este trabajo tres poblaciones de ungulados de la Península Ibérica: el, arruí, muflón (*Ovis musimon*) y oveja doméstica (*Ovis aries*) manchega, provenientes de una finca privada de caza

de Montes de Toledo, de una finca privada de Ciudad Real y de una explotación ganadera de Ciudad Real, respectivamente. Las muestras procedentes de Jordania fueron recogidas durante el manejo de los animales en el campo, en marzo de 2015. Se recogió una porción de oreja de 21 arruís y 12 uriales y se guardó en etanol a 99% para posteriores análisis genéticos. En el caso de los animales silvestres de la península Ibérica, se usó una porción de bazo recogida durante la necropsia en campo de los animales abatidos (8 arruís y 14 muflones) durante las temporadas de caza (2006 - 2012) y conservada a -20°C . También se usó una porción del bazo (guardado a -20°C) de 13 ovejas sacrificadas durante un estudio experimental, para la extracción del ADN (**Tabla 1**).

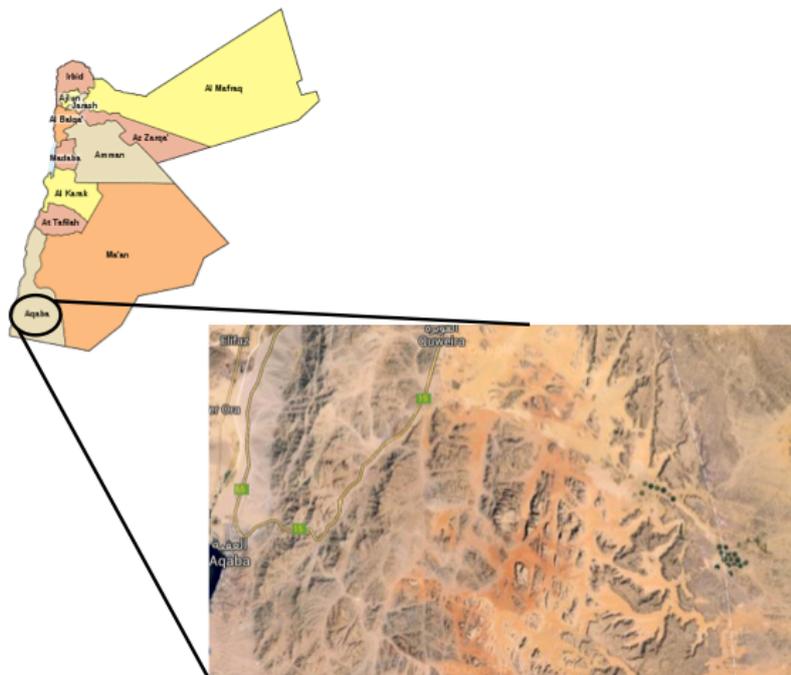


Figura 5. La finca objeto de estudio se encuentra en la región de Áqaba, sur de Jordania. Se caracteriza por muelas pedregosas y valles rellenos de depósitos arenosos.

Extracción de ADN, genotipado y secuenciación

La extracción del ADN se realizó mediante la utilización de dos kits comerciales en columna: el kit Macherey – Nagel® para las muestras de la Península Ibérica (bazo) y el kit Qiagen® para las muestras de Jordania (oreja); siguiendo las instrucciones descritas en cada uno de los kits, respectivamente (**Tabla 1**).

Tabla 1. Caracterización de las poblaciones muestreadas y muestras recogidas para la extracción del ADN y posteriores análisis genéticos.

Especie	Nº de muestras	Sistema de manejo	Sistema de muestreo	Extracción ADN	Tipo de muestra	Año de muestreo	Procedencia
Arruí	21	Finca de caza	Manejo en campo	Qiagen	Oreja	2015	Áqaba, Jordania
Urial	12						
Arruí	8	Finca de caza	Montería	Macherey – Nagel	Bazo	2004 - 2006	Castilla-la-mancha, España
Muflón	14					2011 y 2012	
Oveja	13	Explotación intensiva	Sacrificio			2014	

Una vez que se tuvo el ADN extraído, se estimó a través de un gel de agarosa al 0,8% de concentración, el estado de integridad de las cadenas y el grado de concentración relativamente al marcador de peso molecular “*ladder L5*” (Life Technologies, Gaithersburg, MD, USA) (**Figura S1**). Para determinar la diversidad genética de las poblaciones se utilizaron dos paneles de marcadores nucleares (microsatélites) que están recomendados por la ISAG – FAO (*International Society Animal Genetics – Food Agricultural Organization*) para ovejas y cabras, dos de las especies más próximas, relativamente, a las estudiadas (**Tabla 2**).

Tabla 2. Caracterización de los microsatélites usados en cada una de las multiplexes.

Multiplex	Locí	Tamaño (bp)	Autor	Fluoróforo
1	INRA5 F-TTCAGGCATACCCCTACACCACATG R- AATATTAGCCAACTGAAAACCTGGG	135-141 ##	Pepin et al. 1995	FAM
	INRA63 F-ATTTGCACAAGCTAAATCTAACC R-AAACCACAGAAATGCTTGAAG	159-167 ##	Vaiman et al. 1994	
	MAF65 F-AAAGGCCAGAGTATGCAATTAGGAG R-CCACTCCTCCTGAGAATATAACATG	117-141 ##	Moore, S. S. et al. 1994	
	VIC	CSRD247 F-GGACTTGCCAGAACTCTGCAAT R-CACTGTGGTTTGTATTAGTCAGG	219-245 ##	Kemp, S. J. et al. 1993
		HSC F-CTGCCAATGCAGAGACACAAGA R-GTCTGTCTCCTGTCTTGTGCATC	267-301 ##	Jann, O. C. et al. 2006
		McM42 F-CA TCTTTCAAAGAAGTCCGAAAGTG R-CTTGAATCCTTCTCAACTTTCCGG	66-120 ##	Hulme et al, 1994
		OarFCB20 F-GGAAAACCCCATATATACCTATAC R-AAATGTGTTTAAGATTCCATACATGTG	94-130 ##	Buchanan et al. 1994
	OarFCB304 F-CCCTAGGAGCTTTCAATAAAGAA R-TCGGCGCTGCTGTCAACTGGGTCAGGG	140-194 ##	Yang, L. et al. 1999	
	INRA6 F-AGGAATATCTGTATCAACCTCAGTC R-CTGAGCTGGGGTGGGAGCTATAAATA	109-123 **	Pepin et al. 1995	PET
2	INRA23 F-GAGTAGAGCTACAAGATAAACTTC R-TAACTACAGGGTGTAGATGAACT	197-213 **	Pepin et al. 1995	FAM
	INRA172 F-CCACTCCCTGTATCCTCCT R-GGTGCTCCCATTTGTAGAC	150-170 ##		VIC
	McM527 F-GTCCATTGCCTCAAATCAATTC R-AAACCATTGACTACTCCCAA	155-173 **	Jann, O. C. et al. 2006	NED
	SPS113 F-CCTCCACACAGGCTTCTGACTT R-CCTAACTTGCTTGAGTTATTGCC	132-170 ##		PET

Leyenda: El tamaño de los fragmentos amplificados esta descrito para la oveja (##) y cabra (**), respectivamente. Se usó en este trabajo cuatro fluoróforos (FAM, VIC, PET, NED).siguiendo el método de “M13-tailed fluorescent labelling method for PCR fragments” (Blacket et al. 2002).

Se realizó una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para cada uno de los 73 individuos, en la cual se añadió 5 µl de master mix (Applied

Biosystems, Foster, CA, USA), 1 μ l de mix de oligonucleótidos, 3 μ l de H₂O y 1 μ l de ADN. Se desarrolló un programa de PCR universal para todas las especies y multiplexes (**Tabla 3**). Se testó el producto de la PCR en un gel de agarosa al 2% para comprobar que las muestras amplificaran correctamente (**Figura S2**). Para el genotipado se añadió a 1 μ l del producto de PCR, 10 μ l de solución Formamida y LIZ a una concentración de 96:4 (“GeneScan-500 LIZ Size Standard”; Vázquez-Lobo & Morales, 2015). La lectura de los electroferogramas se hizo con el programa GENEMAPPER 4.0 (Applied Biosystems, Foster, CA, USA) por dos observadores independientes. A través de la amplificación de estos microsatélites fue posible determinar los genotipos de cada individuo.

Tabla 3. Programa de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) usado para la amplificación de los microsatélites (multiplexes) y del gen *CtyB* del ADN mitocondrial.

Fases	Microsatelites			Mitocondrial		
	Temperatura	Duración	Ciclos	Temperatura	Duración	Ciclos
Desnaturalización	95°	15'	x1	95°	15'	x1
Annealing	95°	30''	x30	95°	30''	x11 (x6) ⁴
	54	45''		56-51° ¹ 56° - 53° ² 58° - 55° ³	40''	
	72	45''		72	40''	
Elongación	95°	30''	x8	95°	30''	x34
	53°	45''		51°	40''	
	72°	45''		72°	40''	
Terminación	60°	30'	x1	60°	10'	x1
Conservación	10°	infinito		10°	infinito	x1

Leyenda: ¹ Temperatura de annealing específica para urial; ² Temperatura de annealing específica para arruí; ³ Temperatura de annealing específica para muflón y oveja; ⁴ Ciclos de la etapa de annealing específicos para arruí, muflón y oveja.

Para amplificar el gen citocromo B (*CytB*) del ADN mitocondrial (mtADN) se utilizó los oligonucleótidos universales GLUD-G y CB3-H (Palumbi et al, 2002) pero con distintos programas de amplificación (termociclador) para cada una de las especies (**Tabla 4**). Así que se optimizó la temperatura de “annealing” de la PCR para cada una de las especies. Seguidamente, se comprobó mediante un gel de agarosa al 2% la correcta amplificación del fragmento esperado (**Figura S3**). Una vez amplificado, se añadió 1 μ l de la

solución EXOSAP-IT en cada una de las muestras amplificadas y se colocó nuevamente en el termociclador: [programa SEQ 53° (**Tabla S1**)]. Para la reacción de secuenciación se utilizaron los dos oligonucleótidos (“forward” and “reverse”), visto que el tamaño del fragmento era demasiado elevado para la capacidad del secuenciador (ABI310x, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Así, para la completa secuenciación de los 800 pares de base del fragmento del mtADN se realizaron dos reacciones para cada individuo, en lo cual se añadió a 1 μ l de PCR amplificado 0,5 μ l de BigDye Terminator™ (nucleótidos marcados con fluorescencia; Rosemblum et al, 1997), 1 μ l de buffer y 7 μ l de H₂O. En el siguiente paso, se limpió las secuencias con una solución de SEPHADEX (Pharmacia, Upsala, Suiza), (Andrews, P. 1964). La secuenciación propiamente dicha se llevó a cabo en el secuenciador (ABI310x, Applied Biosystems, Foster, CA, USA). La lectura y confirmación de las secuencias se hizo a través del SEQSCAPE 2.5 (Applied Biosystems, Foster, CA, USA).

Caracterización de los microsatélites

Se utilizó el programa MICROCHECKER versión 2.2 (Van Oosterhout et al. 2003) para comprobar la existencia de posibles errores asociados a la amplificación y lectura de los microsatélites en cada una de las especies, separadamente. Este programa estima la presencia de tres tipos de errores en los genotipos: alelos nulos, falsos alelos y “*dropout*”. Posteriormente, se calculó el equilibrio Hardy-Weinberg (HWE) y el *linkage disequilibrium* para los marcadores que no presentaban posibles errores usando el programa GENEPOP versión 4.2 (Raymond and Rousset 1995). Apenas se consideró para las análisis posteriores de diversidad genética los microsatélites en equilibrio de HWE y en “*linkage equilibrium*”.

Diversidad genética

Se calculó la diversidad genética poblacional a través de las frecuencias alélicas de los microsatélites y de las frecuencias haplotípicas y nucleotípicas del ADN mitocondrial. Usando el programa GENALEX versión 6.5 (Peakall & Smouse, 2012) se calculó el número de alelos (N_a), la heterocigotía observada

(H_o) y esperada (H_e). A su vez, la riqueza alélica (AR) y el coeficiente de consanguineidad (F_{IS}) se estimó usando el programa FSTAT versión 2.9.3 (Goudet, 2001). La riqueza alélica se estimó teniendo en cuenta el menor número de individuos en cada uno de los grupo de especies/poblaciones (arruí Jordania/Iberia y urial/muflón/oveja). Se usó el análisis de componente factorial integrado en el programa GENETIX versión 4.05 (Belkhir et al, 2004) para estimar la diferenciación genética entre los individuos de cada población y entre las poblaciones. La frecuencia haplotípica y nucleotídica del gen CytB del ADN mitocondrial (800 bp) se calculó para cada especie usando el programa DnaSP (Librado, P. & Rozas, J. 2009).

Filogeografía

Para estudiar la filogeografía de las especies clave de este trabajo (arruí y urial), además de usar las secuencias amplificadas en este estudio, se utilizaron las secuencias publicadas y disponibles para ambas especies en el GENBANK (**Tablas S2 - S5**). La visualización y tratamiento de las secuencias se hizo mediante el programa BIOEDIT (Hall, 1999). Todas aquellas secuencias con un tamaño inferior a 450 pares de bases (tamaño de la mayoría de las secuencias disponibles) fueran excluidas del análisis filogeográfico. Usando el programa NETWORK 4.6.1.3 (Fluxus Technology Ltd), se construyó una red de haplotipos a través del algoritmo *median-joining* para cada una de las especies clave. También se usó el método “*statistical parsimony*” implementado en el programa TCS versión 1.21 (Clement et al, 2000) para crear una red de haplotipos y de modo que se pueda comparar con los resultados obtenidos en el NETWORK. El programa TCSBU (<http://cibio.up.pt/seminars-in-biodiversity-and-evolution/details/tcsbu-a-tocs-network-beautifier>) permitió la visualización de la red de haplotipos alcanzada en el programa TCS.

Con el programa JMODELTEST 2.1.7.2 (Posada, D. 2008) se estimó, separadamente para cada una de las especies, el mejor modelo de sustitución nucleotídica usando el algoritmo “*heuristic*”. Basado en AIC (Akaike Information Criterion) y BIC (Bayesian information criterion) los mejores modelos de sustitución fueran seleccionados: TN93+G para el arruí y el HKY+I+G para el urial. Usando los modelos estimados y el método “*máximum likelihood*” y

“bayesiano” se construyeron árboles filogenéticos para cada una de las especies mediante los programas MEGA 5.2.2 (10^4 replicaciones; Tamura et al. 2011) y BEAST versión 1.8.2 (10^6 generaciones e muestreados a cada 100 generaciones (Drummond, A. J. & Rambaut, A. 2007) y siguiendo los parámetros predefinidos. Se usó el programa TRACER versión 1.6, (Rambaut et al. 2014) para la visualización de los resultados obtenidos en el BEAST y el programa FIGTREE versión 1.4.2 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>) para la representación del árbol filogenético.

Resultados

Caracterización de los microsatélites

Los análisis llevados a cabo con el programa MICROCHECKER para comprobar la calidad de los genotipos, apenas indicaron un posible exceso de homocigotía en los loci Inra06 y McM527 para la población ibérica de arruí, y sólo para el locus McM527 en la población jordana. Se descartó el locus McM527 del análisis posterior de diversidad genética, ya que el mismo tipo de error se produjo en ambas poblaciones. Sin embargo, no se descartó el locus Inra06, debido a que solamente, se detectó en la población ibérica (posiblemente debido al número reducido de individuos). Por lo tanto, se trabajó con diez microsatélites para el arruí y con trece para el resto de especies (urial, muflón y oveja).

Tabla 4. Parámetros de diversidad genética estimadas para cada uno de los microsatélites analizados en las poblaciones de arruí.

Locus	M	Población de arruí de Jordania						Población de arruí de la Península Ibérica						
		HWE	Na	RA	H _o	H _e	F _{is}	M	HWE	Na	RA	H _o	H _e	F _{is}
Inra06		SI	3	2,1	0,143	0,452	0,121	Al. nulos	NO	2	2,7	0,571	0,490	0,714
Inra5		SI	3	2,1	0,143	0,135	0,187		SI	2	1,0	0,286	0,408	NA
Inra63		SI	4	1,9	0,333	0,295	-0,059		SI	2	2,0	0,167	0,153	-0,333
Maf65		SI	10	4,8	0,762	0,838	0,128		SI	4	5,1	0,571	0,724	0,104
OarFCB20		SI	6	5,1	0,476	0,729	0,153		SI	6	1,9	0,714	0,816	1,000
OarFCB304		SI	2	2,0	0,476	0,499	0,052		SI	2	2,0	0,429	0,500	0,143
Inra172		SI	3	2,2	0,429	0,509	0,091		SI	2	2,0	0,429	0,459	0,143
Inra23		SI	8	5,0	0,714	0,824	-0,097		SI	5	2,7	1,000	0,776	0,217
SPS113		SI	6	4,1	0,762	0,764	-0,017		NO	5	3,4	0,571	0,765	0,000
PROMEDIO			5	3,257	0,471	0,561	0,062			3,33	2,537	0,526	0,566	0,249

Leyenda: M, posibles errores estimados con el MICROCHECKER; HWE, Equilibrio Hardy-Weinberg; Na, número de alelos; RA, riqueza alélica; H_o, heterocigosis observada; H_e, heterocigosis esperada; F_{is}, coeficiente de consanguinidad.

Todos los loci se encuentran en equilibrio Hardy–Weinberg en todas las especies, a excepción de Inra06 y SPS113 para la población de arruí de la Península Ibérica (**Tabla 4 y 5**). No se observan loci en linkage disequilibrium.

Diversidad genética

Todos los microsatélites se revelaron polimórficos en las especies estudiadas (**Tablas 4 y 5**). En el caso del arruí, el número de alelos (N_a) varía entre dos (Inra63) y diez (Maf65), siendo la media cuatro (**Tabla 4**). La heterocigosis observada (H_o) y la esperada (H_e) varían entre 0,143/1 y 0,135/0,824, respectivamente, siendo la media de ambas poblaciones 0,498 para H_o y 0,563 para H_e . El coeficiente de endogamia (F_{is}) varía entre -0,333/1, siendo la media de ambas poblaciones 0,155 (**Tabla 5**).

Centrando la atención en el urial, se puede observar que el número de alelos (N_a) varía entre tres (CSR247) y 13 (Inra172), siendo la media cinco (**Tabla 5**). La heterocigotía observada (H_o) y la esperada (H_e) varían entre 0,364/1 y 0,417/0,826, respectivamente, siendo la media 0,747 para H_o y 0,633 para H_e . El coeficiente de endogamia (F_{is}) varía entre -0,304/0,036, siendo la media -0,052. La riqueza alélica media de la población de urial es de 3,45 (**Tabla 5**).

Tabla 5. Parámetros de diversidad genética estimadas para cada uno de los microsatelites analizados en las poblaciones de urial, muflón y oveja

Locus	M	HWE	Urial					Muflón					Oveja				
			N_a	RA	H_o	H_e	F_{is}	N_a	RA	H_o	H_e	F_{is}	N_a	RA	H_o	H_e	F_{is}
CSR247	SI		3	2,9	0,364	0,533	0,360	2	2,0	0,308	0,355	0,172	7	6,4	0,615	0,692	0,150
HSC	SI		3	3,0	0,818	0,649	-0,216	4	4,0	0,500	0,712	0,337	10	8,9	0,769	0,814	0,094
Inra06	SI		3	2,9	0,545	0,417	-0,263	2	2,0	0,538	0,453	-0,151	7	6,0	0,615	0,547	-0,085
Inra5	SI		4	3,9	0,545	0,678	0,241	4	4,0	0,692	0,719	0,077	10	8,7	0,923	0,775	-0,152
Inra63	SI		4	3,8	0,636	0,479	-0,284	2	2,0	0,333	0,375	0,154	8	7,7	0,923	0,846	-0,051
Maf65	SI		3	3,0	0,800	0,615	-0,252	4	3,8	0,615	0,627	0,059	5	4,8	0,769	0,743	0,004
McM42	SI		4	4,0	0,727	0,727	0,048	3	2,8	0,692	0,536	-0,256	5	4,5	0,692	0,568	-0,180
OarFCB20	SI		4	3,9	0,727	0,591	-0,185	4	4,0	0,615	0,689	0,147	8	7,0	0,692	0,743	0,107
OarFCB304	SI		3	3,0	0,545	0,434	-0,212	4	4,0	0,615	0,627	0,059	9	8,6	0,923	0,852	-0,043
Inra172	SI		13	3,9	1,000	0,826	0,304	16	2,8	1,000	0,846	0,168	16	4,3	1,000	0,799	0,161
Inra23	SI		7	3,0	1,000	0,777	0,172	6	5,0	1,000	0,716	0,065	11	9,4	1,000	0,840	-0,087
McM527	SI		6	3,9	1,000	0,723	-0,304	8	3,9	1,000	0,766	-0,067	12	4,8	1,000	0,852	0,077
SPS113	SI		7	3,9	1,000	0,785	-0,088	7	5,0	1,000	0,828	-0,031	10	6,3	1,000	0,843	-0,004
PROMEDIO			5	3,5	0,747	0,633	-0,052	5	3,5	0,685	0,635	0,056	9	6,7	0,840	0,763	-0,001

Leyenda: M, posibles errores estimados con el MICROCHECKER; HWE, Equilibrio Hardy-Weinberg; N_a , número de alelos; RA, riqueza alélica; H_o , heterocigosis observada; H_e , heterocigosis esperada; F_{is} , coeficiente de consanguinidad.

En el caso del muflón, el número de alelos (N_a) varía entre dos (CSR247) y 16 (Inra172), siendo la media cinco (**Tabla 5**). La heterocigotía observada (H_o) y la esperada (H_e) varían entre 0,348/1 y 0,355/0,828, respectivamente, siendo la media 0,685 para H_o y 0,635 para H_e . El coeficiente de endogamia (F_{IS}) varía entre -0,256/0,337, siendo la media 0,056. La riqueza alélica media de la población de muflón es de 3,469 (**Tabla 5**). Para la oveja se puede observar que el número de alelos (N_a) varía entre cinco (Maf65 y McM42) y 16 (Inra172), siendo la media nueve. La heterocigotía observada (H_o) y la esperada (H_e) varían entre 0,615/1 y 0,547/0,852, respectivamente, siendo la media 0,840 para H_o y 0,763 para H_e . El coeficiente de endogamia (F_{IS}) varía entre -0,180/0,161, siendo la media -0,001. La riqueza alélica media de la población de oveja es de 6,721 (**Tabla 5**).

El grado de diferenciación genética entre individuos de la misma población y entre las poblaciones se cuantificó con un análisis factorial multivariante (**Figura 6**).

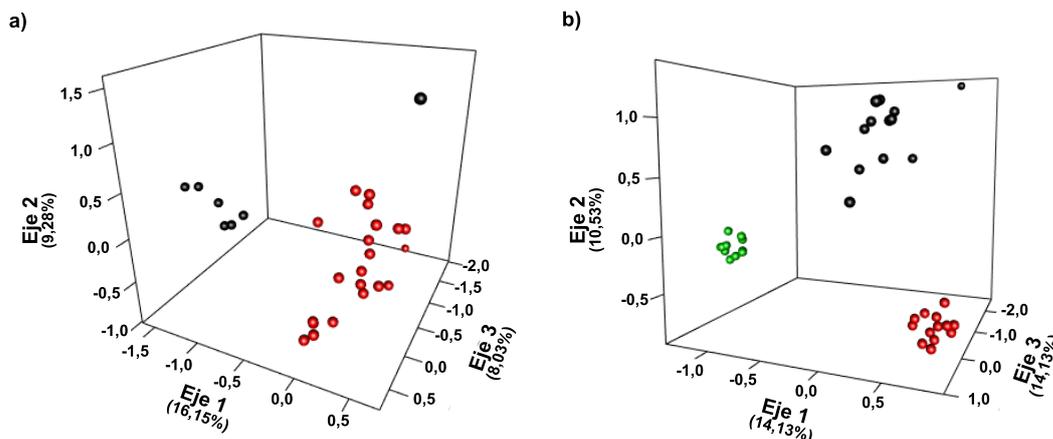


Figura 6. Resultado del análisis factorial multivariante realizado para el grupo de poblaciones de arru (a) y urial, muflón y oveja (b). El porcentaje de variabilidad genética explicada por cada uno de los tres componente principales están representados en cada eje. En la población de arru de la Península Ibérica (color negro) se observa un punto más alejado al grueso del grupo, correspondiente al individuo número uno de esta población. En la población de Jordania (a color rojo), se puede observar otro punto alejado que corresponde al individuo número dos de esta población.

Relativamente al arru (**Figura 6a**), se observaron diferencias tanto entre los individuos de la misma población [siendo que las diferencias fueran más

evidentes dentro de la población jordana (en rojo) que la ibérica (en negro); nube de individuos más dispersa] como entre las dos poblaciones (nubes separadas). Los tres ejes explican 31,97% de la variabilidad genética total.

En el caso del urial, muflón y oveja (**Figura 6b**), la suma de los tres ejes explican el 39,19% de la variabilidad genética total. Como se esperaba, las tres especies se diferencian claramente (nube de puntos bastante separadas), siendo que los individuos de la población de oveja (en negro) son los que presentan mayor diferenciación genética dentro de la misma población. La diferenciación genética no es tan evidente entre los uriales (en verde) y muflones (en rojo) (**Figura 6b**).

Después de estudiar la variabilidad genética del ADN mitocondrial, se observó, para el arruí, cinco haplotipos distintos y una diversidad haplotípica de 0,77. En el caso del urial, se obtuvieron tres haplotipos con una diversidad haplotípica de 0,96.

Filogeografía

De los cinco haplotipos observados en las poblaciones de arruí (tamaño de las secuencias 450 pb), dos son exclusivos de la población de la Península Ibérica (H1 y H8), dos son exclusivos de la población jordana (H3 y H4), y el haplotipo H2 fue encontrado en ambas poblaciones. La red de haplotipos obtenida para el programa NETWORK, que estima la historia evolutiva de la especie, está representada en la **Figura 7**. Resultados similares fueron observados para el programa TCS (datos no enseñados). Relativamente a la población de Jordania (**Figura 7a**), dos líneas evolutivas fueron evidenciadas separadas por 15 mutaciones, una con los haplotipos H2 y H3 (separadas apenas por dos mutaciones) y otra referente al haplotipo 4. Comparando nuestros haplotipos con los ya descritos en la literatura (**Figura 7b**), se obtiene las mismas dos grandes líneas evolutivas, siendo que el haplotipo H3 nunca había sido reportado. Un patrón similar de divergencia entre haplotipos fue observado en el árbol filogenético, con una elevado grado de confianza en ambos métodos - "máximo likelihood" y "bayesiano" (**Figura 11**). Se observaron dos clados principales que ramificaban, cada uno, en dos subclados. El haplotipo 8 fue el único que presentó resultados inconsistentes entre análisis. En la NETWORK, el H8 estaba evolutivamente más próximo del grupo

de los haplotipos (H1, H2, H3, H9) mientras que en el árbol se bifurca del grupo H4, H5, H6 y H7 posteriormente a la separación del grupo (H1, H2, H3, H9).

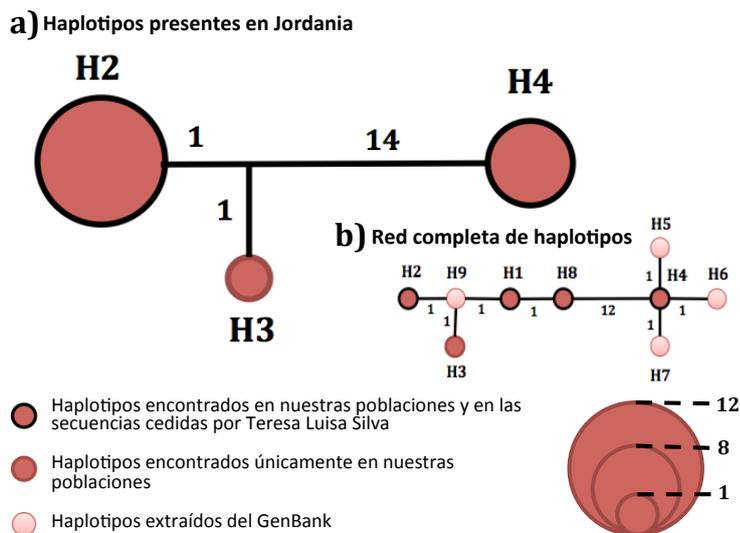


Figura 7. Red de haplotipos obtenida con el programa NETWORK para la población de arruí de Jordania (a) y para todas las muestras analizadas, incluyendo las muestras de GenBank y España (b). Además, la frecuencia de los haplotipos de la población de Jordania está representado en la figura (a). Los números indican el número de mutaciones que existen entre los haplotipos.

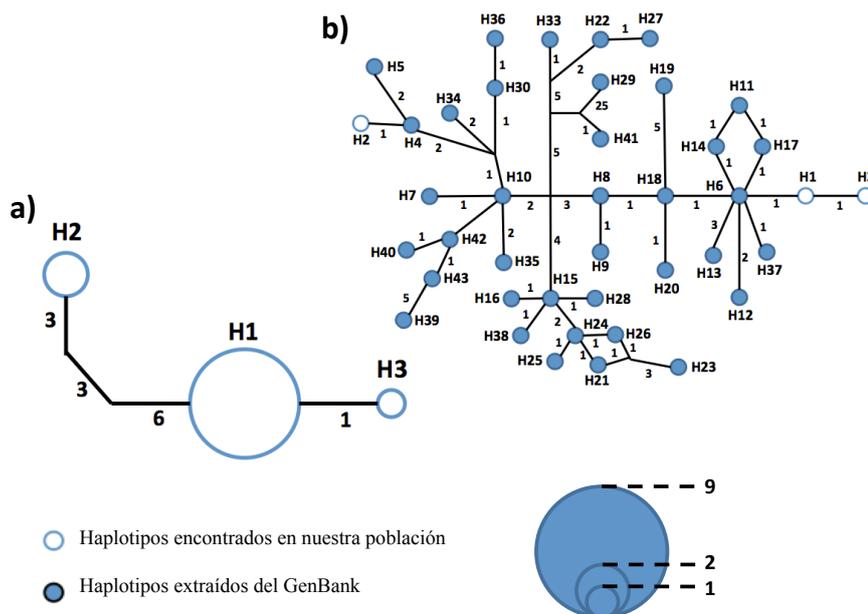


Figura 8. Red de haplotipos obtenida con el programa NETWORK para la población de urial de Jordania (a) y para todas las muestras bajadas del GenBank (b). Además, la frecuencia de los haplotipos de la población de Jordania está representado en la figura (a). Los números indican el número de mutaciones que existen entre los haplotipos.

En relación al urial, la historia evolutiva inferida con el programa NETWORK de los tres haplótipos encontrados (H1, H2 y H3) en la población de Jordania esta representada en la **figura 8a**, mientras que la red de todos los haplótipos analizados esta representado en la **figura 8b**. Resultados similares fueron obtenidos con el programa TCS (datos no enseñados). Dos líneas evolutivas separadas por 12 mutaciones fueron observadas en la población de Jordania, haplótipos H1 y H3 y el haplótipo H2. Un patrón similar fue registrado para el árbol filogenético con elevado grado de confianza (**Figura 12**). Los individuos de Jordania se agruparan en dos clados divergentes.

Discusión

En la última década los marcadores moleculares han demostrado ser medios comunes, baratos, rápidos y precisos en el apoyo a la gestión de las poblaciones, principalmente a la evaluación de la variabilidad genética y también en la identificación y determinación de la historia evolutiva (Darling, y Blum 2007). Usando estas herramientas moleculares, en este trabajo se caracterizó las poblaciones de arruí y urial de una finca privada de caza de Jordania en la cual el origen de los individuos, la diversidad genética de las poblaciones y el manejo efectuado en los últimos años era desconocido. Además, se analizó y comparó las subespecies de arruí desde el punto de vista del ADN mitocondrial, y se obtuvo por la primera vez datos de diversidad genética para estas dos especies de ungulados.

Diversidad genética

El efecto fundador y el tamaño efectivo de las poblaciones son dos de los factores que modelan la diversidad genética de las poblaciones (Frankham, 1995). El hecho de que en Jordania hayan sido introducidos arruís de dos regiones muy distintas, resultado inferido a través del análisis del ADN mitocondrial, y de se estimar un elevado número de individuos en la población pueden justificar los valores de diversidad genética observados cuando comparado con la población de la Península Ibérica. En general, la población jordana presentó valores de diversidad genética más elevados, una mayor riqueza alélica y menor coeficiente de consanguinidad. Además, esta mayor diversidad se refleja en la mayor diferenciación observada entre los individuos

(Figura 7a), siendo que el individuo más alejado del grueso de la población presenta el haplótipo 3 del gen CytB del ADN mitocondrial, lo que por el análisis de la historia evolutiva, sugiere que proviene del mismo grupo del haplótipo 9 que esta descrito en Estados Unidos.

Relativamente al urial, se observó un patrón muy similar al arruí, la población jordana presentó el menor valor de coeficiente de consanguinidad y valores de riqueza alélica y heterocigocis elevados y muy próximos de la diversidad genética observada en la población de oveja (Tabla 9 y Tabla 5). Curiosamente, la población de muflones fue la que presentó menores índices de diversidad genética. La diferenciación genética entre los individuos de la población jordana de urial, sin embargo, no fue tan evidente como el caso del arruí (Figura 7b).

	Na	H _o	H _e	F _{is}	Riq. Alélica
Urial	5	0,747	0,633	-0,052	3,475
Muflón	5	0,685	0,635	0,056	3,469
Oveja	9	0,840	0,763	-0,001	6,721

Tabla 9. Diversidad genética de las poblaciones de muflón, oveja y urial obtenida a partir de la media de los parámetros para cada uno de los locus. Na, número de alelos; H_o, heterocigotía observada; H_e, heterocigotía esperada; F_{is}, coeficiente de endogamia/consanguinidad; Riq. alélica, riqueza alélica; Riq. Alélica total, riqueza alélica total.

Filogeografía

La historia evolutiva y demográfica de los individuos de las poblaciones diana fue inferido a través del análisis conjunto de la red de haplótipos, árbol filogenético y la disposición geográfica de las diversas subespecies descritas en la literatura. De los tres haplótipos de arruí observados en la población jordana (H2, H3 y H4), el haplótipo 3 fue identificado por primera vez en este trabajo. La gran divergencia genética observada entre los haplótipos 2 y 3 y el haplótipo 4, conjuntamente con la disposición de estos haplótipos en la distribución geográfica de las subespecies, sugiere que estos haplótipos son típicos de las subespecies *A.l.lervia* y *A.l.sahariensis*, respectivamente.

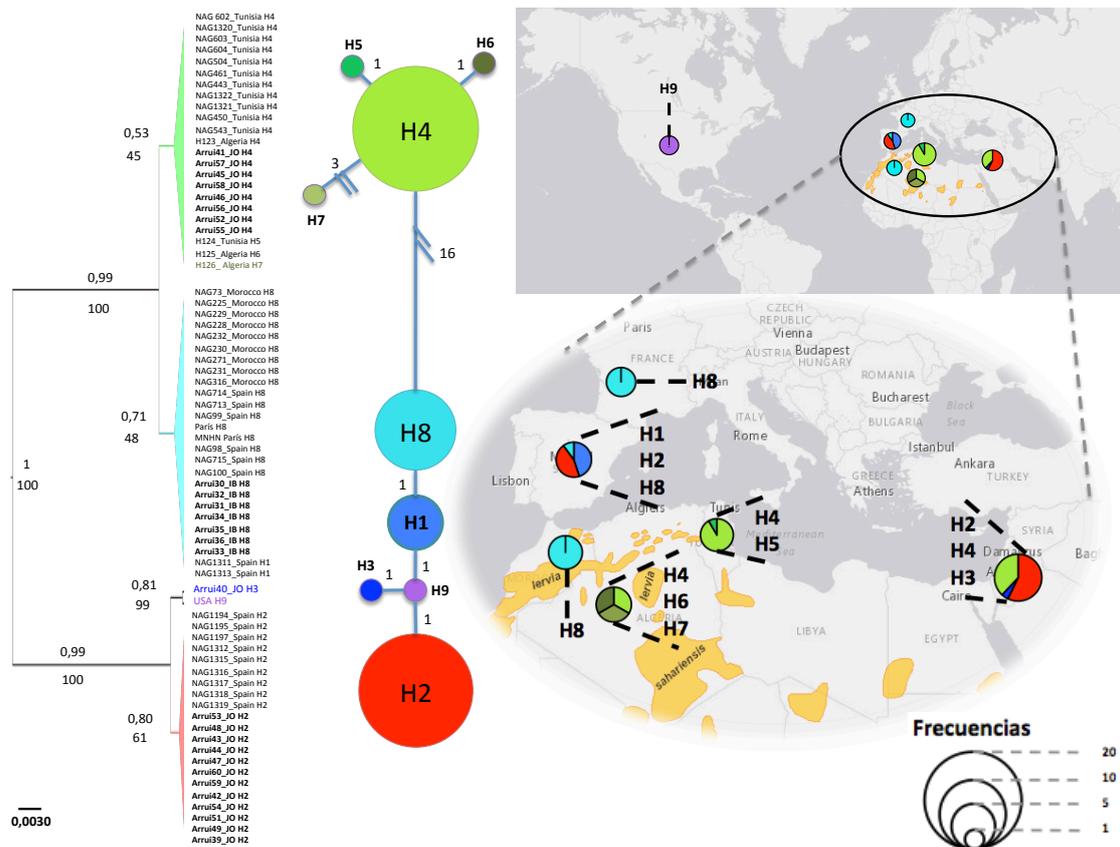


Figura 9. Figura en la que se relacionan los clados principales con los haplotipos existentes en las secuencias de **arruí** estudiadas. Los distintos colores en los haplotipos identifican a los clados principales. Aquellos colores que pertenecen a una misma gama de color, como por ejemplo, los colores verdes, quieren decir que pertenecen al mismo clado principal pero tienen haplotipos distintos. Los diagramas circulares del mapa indican que haplotipos se encuentran en cada país y en que porcentaje, en función de los animales con esa procedencia que tengan ese haplotipo.

En el caso del urial (**Figura 10**), dos de los haplotipos presentes en la población de Jordania (H2 y H3) están únicamente presentes en esta población. El H2 está genéticamente más cerca del H4 que, por su localización, parece pertenecer a la subespecie de *O.v.kermanensis* que está presente en Irán; y el H3 está más cerca del H1 y del H6 que parecen pertenecer a la subespecie de *O.v.arkal* procedente principalmente de Irán, Turkmenistán y Kazajistán. Con esto se puede decir, que las introducciones realizadas en la finca privada de Jordania se han hecho principalmente de Irán, Turkmenistán y Kazajistán.

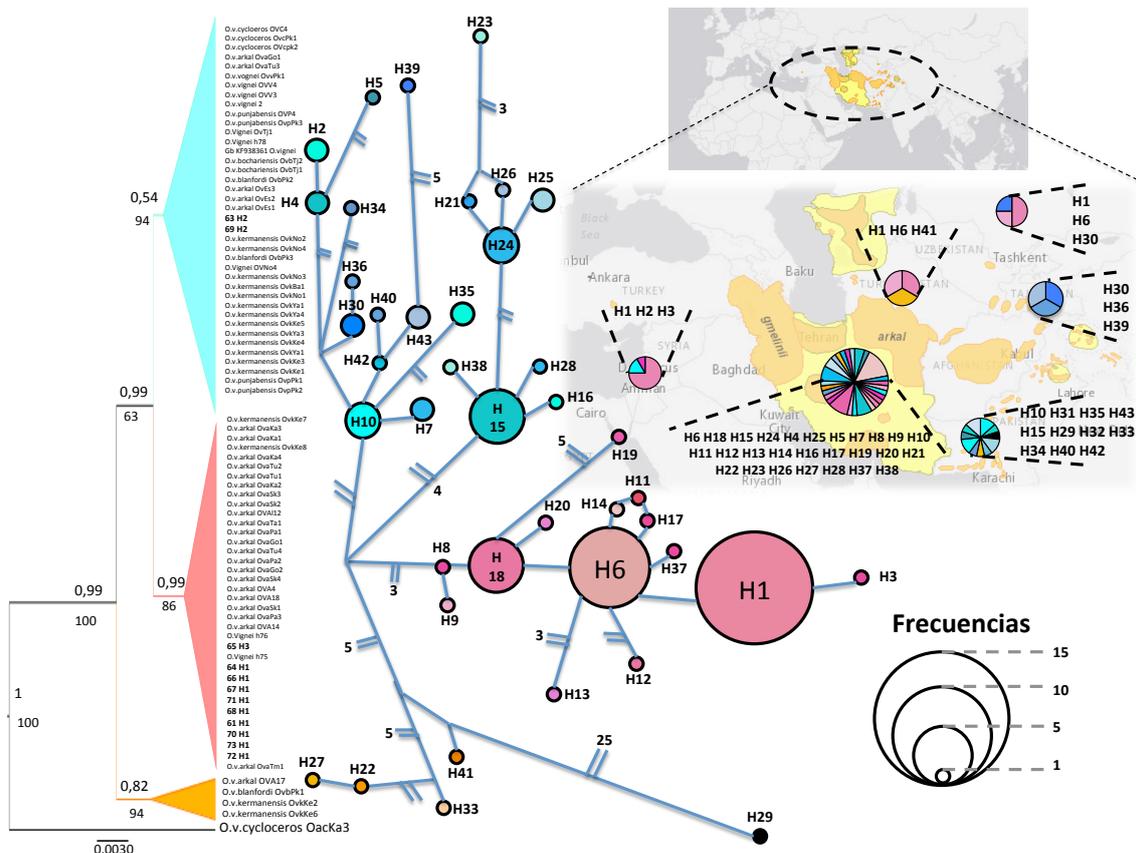


Figura 10. Figura en la que se relacionan los clados principales con los haplotipos existentes en las secuencias de **urial** estudiadas. Las distintas gamas de color en los haplotipos identifican a los clados principales. Aquellos colores que pertenecen a una misma gama de color, como por ejemplo, los colores rosas, azules y amarillos, quieren decir que pertenecen al mismo clado principal pero dentro de ese mismo clado existen haplotipos distintos. Los diagramas circulares del mapa indican qué haplotipos se encuentran en cada país y en qué porcentaje, en función de los animales con esa procedencia que tengan ese haplotipo.

Conclusiones

A partir del análisis de los marcadores moleculares, microsatélites y ADN mitocondrial, fue posible cuantificar la variabilidad genética de las poblaciones de arruí y urial de la finca de Jordania, así como determinar la posible procedencia de sus individuos. Resultados similares de diversidad genética fueron observados tanto para la población de arruí como urial, cuando se compararon con las poblaciones control. De realzar la posible presencia de varias subespecies de arruí y urial en la finca, como resultado de la introducción de individuos de varias regiones distintas. Este cruzamiento de individuos genéticamente distintos resultó en niveles moderados/elevados de

diversidad genética que tienden a asegurar la viabilidad de las poblaciones en el futuro, aunque con impactos desconocidos en las subespecies.

Bibliografía

- Acevedo P, Cassinello J (2009) Human-induced range expansion of wild ungulates causes niche overlap between previously allopatric Species: red deer and iberian ibex in mountainous regions of southern Spain. *Annales Zoologici Fennici* 46:39–50. doi: 10.5735/086.046.0105.
- Acevedo-Whitehouse K, Gulland F, Greig D, Amos W (2003) Inbreeding: Disease susceptibility in California sea lions. *Nature* 422:35.
- Allendorf F, Luikart G (2007) *Conservation and the Genetics of Populations*. Blackwell, Oxford.
- Arif, I. A., Bakir, M. A., & Khan, H. A. (2012). Inferring the phylogeny of bovidae using mitochondrial DNA sequences: resolving power of individual genes relative to complete genomes. *Evolutionary bioinformatics online*, 8, 139.
- Asher GW, Archer J a, Scott IC, et al. (2005) Reproductive performance of pubertal red deer (*Cervus elaphus*) hinds: effects of genetic introgression of wapiti subspecies on pregnancy rates at 18 months of age. *Animal reproduction science* 90:287–306. doi: 10.1016/j.anireprosci.2005.01.020.
- Belkhir K, Borsa P, Chikhi L, et al. (2004) GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations.
- Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi, L., Raufaste, N., & Catch, F. (2004). GENETIX 4.0. 5.2., Software under Windows™ for the genetics of the populations. *University of Montpellier, Montpellier, France*.
- Bell, J. (2008). A simple way to treat PCR products prior to sequencing using ExoSAP-IT. *Biotechniques*, 44(6), 834.
- Buchanan, F.C., S.M. Galloway, and A.M. Crawford, (1994). Ovine microsatellites at the OarFCB5, OarFCB19, OarFCB20, OarFCB48, OarFCB129 and OarFCB226 loci. *Anim Genet.* 25 (1): 60.
- Burney, D.A. and Flannery, T.F. (2005) Fifty millennia of catastrophic extinctions after human contact. *Trends Ecol. Evol.* 20, 395–401.
- Cabrera A (1911) Los ciervos de España. *Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural* 11:556–559.
- Cabrera A (1914) *Fauna Ibérica*. Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid.
- Carden RF, McDevitt AD, Zachos FE, et al. (2012) Phylogeographic, ancient DNA, fossil and morphometric analyses reveal ancient and modern introductions of a large mammal: the complex case of red deer (*Cervus elaphus*) in Ireland. *Quaternary Science Reviews* 42:74–84. doi: 10.1016/j.quascirev.2012.02.012

- Carranza J (2003) Game species: extinction hidden by census numbers. *Animal Biodiversity and Conservation* 26.2.
- Carranza J (2011) Ciervo – *Cervus elaphus*. Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles
- Cassinello, J. (2003). Muflón – *Ovis orientalis*. En: *Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles*. Carrascal, L. M., Salvador, A. (Eds.). Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid. <http://www.vertebradosibericos.org/>
- Cassinello, J. (2013). *Ammotragus lervia*. In: J. S. Kingdon and M. Hoffmann (eds), *The Mammals of Africa. Volume VI. Pigs, Deer, Giraffe, Bovids, and Hippos*, pp. 595-599. Bloomsbury Publishing, London, UK.
- Charlesworth D, Willis JH (2009) The genetics of inbreeding depression. *Nature reviews Genetics* 10:783–96. doi: 10.1038/nrg2664
- Clement, M., Posada, D. C. K. A., & Crandall, K. A. (2000). TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular ecology*, 9(10), 1657-1659.
- Darling J, Blum M (2007) DNA-based methods for monitoring invasive species: a review and prospectus. *Biological Invasions*, 9, 751–765.
- Defaveri J, Viitaniemi H, Leder E, Merilä J (2013) Characterizing genic and nongenic molecular markers: comparison of microsatellites and SNPs. *Molecular ecology resources* 13:377–92. doi: 10.1111/1755-0998.12071.
- Drummond, A. J., & Rambaut, A. (2007). BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC evolutionary biology*, 7(1), 214.
- European Food Safety Authority (2008) Tuberculosis testing in deer - Welfare. Scientific Opinion of the Panel on Animal Health and EFSA. p Q–2006–179.
- Falush D, Stephens M, Pritchard JK (2003) Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* 164 :1567–1587.
- Fernández-de-Mera IG, Vicente J, Höfle U, et al. (2009) Factors affecting red deer skin test responsiveness to bovine and avian tuberculin and to phytohaemagglutinin. *Preventive Veterinary Medicine* 90:119–126. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.prevetmed.2009.04.005>
- Feulner PGD, Bielfeldt W, Zachos FE, et al. (2004) Mitochondrial DNA and microsatellite analyses of the genetic status of the presumed subspecies *Cervus elaphus montanus* (Carpathian red deer). *Heredity* 93:299–306. doi: 10.1038/sj.hdy.6800504
- Garrido J (2012) La caza. Sector económico. Valoración por subsectores. 24.
- Geist V (1992) Endangered species and the law. *Nature* 357:247–276.
- Gortázar C, Herrero J, Villafuerte R, Marco J (2000) Historical examination of the status of large mammals in Aragon, Spain. *Mammalia* 64:411. doi: 10.1515/mamm.2000.64.4.411.
- Goudet J (2001) FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices.

- Goudet J. (2001) FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices.
- Gray, G. G. (1985). Status and distribution of *Ammotragus lervia*: a worldwide review. Pp. 95- 126. En: Hoefs, M. (Ed.), *Wild sheep. Distribution, abundance, management and conservation of the sheep of the world and closely related mountain ungulates*. Northern Wild Sheep and Goat Council, Whitehouse, Yukon.
- Gray, G. G. and Simpson, C. D. (1980). *Ammotragus lervia*. *Mammalian Species* 144: 1-7.
- Guichoux E, Lagache L, Wagner S, et al. (2011) Current trends in microsatellite genotyping. *Molecular ecology resources* 11:591–611. doi: 10.1111/j.1755-0998.2011.03014.x.
- Guillot G, Mortier F, Estoup A (2005) Geneland: a computer package for landscape genetics. *Molecular Ecology Notes* 5:712–715. doi: 10.1111/j.1471-8286.2005.01031.x.
- Haanes H, Røed KH, Flagstad Ø, Rosef O (2008) Genetic structure in an expanding cervid population after population reduction. *Conservation Genetics* 11:11–20. doi: 10.1007/s10592-008-9781-0.
- Hall, T. A. (1999, January). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. In *Nucleic acids symposium series* (Vol. 41, pp. 95-98).
- Hartl GB, Zachos F, Nadlinger K (2003) Genetic diversity in European red deer (*Cervus elaphus* L.): anthropogenic influences on natural populations. *Comptes Rendus Biologies* 326, Suppl:37–42. doi: [10.1016/S1631-0691\(03\)00025-8](https://doi.org/10.1016/S1631-0691(03)00025-8).
- Irwin, D. M., T. D. Kocher, and A. C. Wilson. (1991). Evolution of the cytochrome *b* gene of mammals. *J. Mol. Evol.* **32**:128–144.
- Jann, O.C.; Aerts, J.; Jones, M.; Hastings, N.; Law, A.; Mckay, S.; Marques, E.; Prasad, A.; Yu, J.; Moore, S.S.; Floriot, S.; Mah, M.F.; Eggen, A.; Silveri, L.; Negrini, R.; Milanese, E.; Ajmone-Marsan, P.; Valentini, A.; Marchitelli, C.; Savarese, M.C.; Janitz, M.; Herwig, R.; Hennig, S.; Gorni, C.; Connor, E.E.; Sonstegard, T.S.; Smith, T.; Drgemler, C.; Williams, J.L. (2006). A second generation radiation hybrid map to aid the assembly of the bovine genome sequence. *BMC Genom.* 6(7):283.
- Kemp, S.J.; Brezinsky, L.; Teale, A.J. (1993). A panel of bovine, ovine and caprine polymorphic microsatellites. *Anim. Genet.* 25: 363-365.
- Law, R. (2007) Fisheries-induced evolution: present status and future directions. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 335, 271–277.
- Librado, P., & Rozas, J. (2009). DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11), 1451-1452.
- Ludt CJ, Schroeder W, Rottmann O, Kuehn R (2004) Mitochondrial DNA phylogeography of red deer (*Cervus elaphus*). *Molecular phylogenetics and evolution* 31:1064–83. doi: 10.1016/j.ympev.2003.10.003.

- Lydeard, C., and K. J. Roe. (1997). The phylogenetic utility of the mitochondrial cytochrome *b* gene for inferring relationships among Actinopterygian fishes. Pp. 285–303 in T. D. Kocher and C. A. Stepien, eds. *Molecular systematics of fish*. Academic Press, New York.
- Marshall, T. C., Sunnucks, P., Spalton, J. A., Greth, A., & Pemberton, J. M. (1999). Use of genetic data for conservation management: the case of the Arabian oryx. *Animal Conservation*, 2(04), 269-278.
- Microsatélite, M. (2007). análisis genético de la raza ovina aranesa con. *Archivos de zootecnia*, 56(Sup 1), 435-439.
- Ministerio de Agricultura (1968) Mapa Cinegético Nacional. Ministerio de Agricultura, Madrid.
- Moore, S. S., Byrne, K., Berger, K. T., Barendse, W., McCarthy, F., Womack, J. E., & Hetzel, D. J. S. (1994). Characterization of 65 bovine microsatellites. *Mammalian Genome*, 5(2), 84-90.
- Moore, S.S., Sargeant L.L., King, T.J., Mattick, J.S., Georges, M., Hetzel, D.J.S. (1991). The conservation of dinucleotide microsatellites among mammalian genomes allows the use of heterologous primer pairs in closely related species. *Genomics* 10, 654–660.
- Moore, W. S., and V. R. Defilippis. (1997). The window of taxonomic resolution for phylogenies based on mitochondrial cytochrome *b*. Pp. 83–119 in D. P. MINDELL, ed. *Avian molecular evolution and systematics*. Academic Press, New York.
- Nagata J, Masuda R, Kaji K, Kaneko M, Yoshida MC (1998) Genetic variation and population structure of the Japanese sika deer (*Cervus nippon*) in Hokkaido Island, based on mitochondrial D-loop sequences. *Molecular Ecology* 7:871–877. DOI: 10.1046/j.1365-294x.1998.00404.x
- Niedziałkowska M, Jędrzejewska B, Honnen A-C, et al. (2011) Molecular biogeography of red deer *Cervus elaphus* from eastern Europe: insights from mitochondrial DNA sequences. *Acta Theriologica* 56:1–12. doi: 10.1007/s13364-010-0002-0.
- Nimir, M. B. (1997). Sudan - Chapter 4.11. In: D. M. Shackleton (ed.), *Wild Sheep and Goats and their Relatives: Status Survey and Conservation Action Plan for Caprinae*, pp. 40-45. IUCN/SSC Caprinae Specialist Group, Gland, Switzerland.
- Peakall R, Smouse PE (2012) GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*, 28, 2537–2539.
- Peakall ROD, Smouse PE (2006) genalex 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* 6:288–295. doi: 10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x
- Pépin L.; Amigues Y.; Lépingle, A.; Berthier, J.L.; Bensais A.; Vaiman D. (1995). Sequence conservation of microsatellites between *Bos taurus* (cattle), *Capra hircus* (goat) and related species. Examples of use in parentage testing and phylogeny analysis. *Heredity*. 74: 53-61.

- Piry S, Alapetite A, Cornuet J-M, et al. (2004) GENECLASS2: A software for genetic assignment and first-generation migrant detection. *Journal of Heredity* 95 :536–539. doi: 10.1093/jhered/esh074.
- Posada D. (2008). jModelTest: phylogenetic model averaging. *Mol. Biol. Evol.* 25:1253–1256.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155 :945–959.
- Rambaut A, Suchard MA, Xie D, Drummond AJ. Tracer v1.6. (2014). <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>
- Randi E, Mucci N, Claro-Hergueta F, et al. (2001) A mitochondrial DNA control region phylogeny of the Cervinae: speciation in *Cervus* and implications for conservation. *Animal Conservation* 4:1–11. doi: 10.1017/S1367943001001019.
- Raymond M, Rousset F (1995) GENEPOP (Version 1.2): Population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity* 86 :248–249.
- Reed DH, Frankham R (2003) Correlation between Fitness and Genetic Diversity. *Conservation Biology* 17:230–237. doi: 10.1046/j.1523-1739.2003.01236.x.
- Rosvold J, Røed KH, Hufthammer AK, et al. (2012) Reconstructing the history of a fragmented and heavily exploited red deer population using ancient and contemporary DNA. *BMC evolutionary biology* 12:191. doi: 10.1186/1471-2148-12-191.
- Ryman, N. et al. (1995) Protection of intraspecific biodiversity of exploited fishes. *Rev. Fish Biol. Fish.* 5, 417–446.
- Skog A., Zachos FE, Rueness EK, et al. (2009) Phylogeography of red deer (*Cervus elaphus*) in Europe. *Journal of Biogeography* 36:66–77. doi: 10.1111/j.1365-2699.2008.01986.x.
- Slate J, Kruuk LE, Marshall TC, et al. (2000) Inbreeding depression influences lifetime breeding success in a wild population of red deer (*Cervus elaphus*). *Proceedings Biological sciences/The Royal Society* 267:1657–62. doi: 10.1098/rspb.2000.1192.
- Socratous E, Graham E a. M, Ruttly GN (2009) Forensic DNA profiling of *Cervus elaphus* species in the United Kingdom. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series* 2:281–282. doi: 10.1016/j.fsigss.2009.08.127.
- Szabolcsi Z, Egyed B, Zenke P, et al. (2008) Genetic identification of red deer using autosomal STR markers. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series* 1:623–624. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigss.2007.10.003>.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., & Kumar, S. (2011). MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular biology and evolution*, 28(10), 2731-2739.

- Vaiman, D., D. Mercier, K. Moazami-Goudarzi, (1994). A set of 99 cattle microsatellites: characterisation, synteny, mapping, and polymorphism. *Mamm. Genome*. 5 (5): 288-297.
- Valdez, R. (2011). *Ovis orientalis*. En: *IUCN Red List of Threatened Species*. Version 2011.2. www.iucnredlist.org
- Van Oosterhout, C., Hutchinson, W. F., Wills, D. P. M., & Shipley, P. (2003). Micro-Checker, version 2.2.3. *Department of Biological Sciences and Department of Computer Science, University of Hull, Hull, UK*.
- Walling CA, Pemberton JM, Hadfield JD, Kruuk LEB (2010) Comparing parentage inference software: reanalysis of a red deer pedigree. *Molecular Ecology* 19:1914–1928. doi: 10.1111/j.1365-294X.2010.04604.x.
- Wang, J. (2013) A simulation module in the computer program colony for sibship and parentage analysis. *Molecular Ecology Resources* 13: 734-739. doi: 10.1111/1755-0998.12106.
- Yang, L., Zhao, S. H., Li, K., Peng, Z. Z., & Montgomery, G. W. (1999). Determination of genetic relationships among five indigenous Chinese goat breeds with six microsatellite markers. *Animal Genetics*, 30(6), 452-455.
- Zachos FE, Hartl GB (2011) Phylogeography, population genetics and conservation of the European red deer *Cervus elaphus*. *Mammal Review* 41:138–150. doi: 10.1111/j.1365-2907.2010.00177.x.
- Zane L., L. Bargelloni y T. Patarnello. (2002). Strategies for microsatellite isolation: a review. *Molecular Ecology* 11: 1-16.

Anexo I: Material y métodos

Tabla S1. Programa de secuenciación en el termociclador del programa SEQ 53°.

Programa SEQ 53°		
Temperatura	Duración	Ciclos
94°C	3 min	
96°C	10 s	
53°C	5 s	x 23
60°C	4 min	
10°C	∞	

Tabla S2. Caracterización de las secuencias de ADN mitocondrial de **arruí** obtenidas del GENBANK e integradas en el análisis filogeográfico.

Authors	Nº genbank	Hap.	Lugar	Tamaño	Nº Hap.
Hassanin,A. Et al 1998	AF034731.1	cytb	Paris	1143bp	H8
Mereu,P. Et al 2008	NC_009510.1	complete	USA	16530b	H9
Hassanin,A. (2008)	FJ207522.1	complete	Paris	16540b p	H8
Silva,T.L. et al 2015	KM582124.1	h124	Túnez	450bp	H5
Silva,T.L. et al 2015	KM582123.1	h123	Algeria	450bp	H4
Silva,T.L. et al 2015	KM582125.1	h125	Algeria	450bp	H6
Silva,T.L. et al 2015	KM582126.1	h126	Algeria	450bp	H7
Silva, T.L. no publicadas		NAG98	España		H8
Silva, T.L. no publicadas		NAG99	España		H8
Silva, T.L. no publicadas		NAG100	España		H8
Silva, T.L. no publicadas		NAG713	España		H8
Silva, T.L. no publicadas		NAG714	España		H8
Silva, T.L. no publicadas		NAG715	España		H8
Silva, T.L. no publicadas		NAG1194	España		H2
Silva, T.L. no publicadas		NAG1195	España		H2
Silva, T.L. no publicadas		NAG1197	España		H2
Silva, T.L. no publicadas		NAG1311	España		H1
Silva, T.L. no publicadas		NAG1312	España		H2
Silva, T.L. no publicadas		NAG1313	España		H1
Silva, T.L. no publicadas		NAG1315	España		H2
Silva, T.L. no publicadas		NAG1316	España		H2
Silva, T.L. no publicadas		NAG1317	España		H2
Silva, T.L. no publicadas		NAG1318	España		H2
Silva, T.L. no publicadas		NAG1319	España		H2
Silva, T.L. no publicadas		NAG73	Marruecos		H8
Silva, T.L. no publicadas		NAG225	Marruecos		H8

Silva, T.L. no publicadas	NAG228	Marruecos	H8
Silva, T.L. no publicadas	NAG229	Marruecos	H8
Silva, T.L. no publicadas	NAG230	Marruecos	H8
Silva, T.L. no publicadas	NAG231	Marruecos	H8
Silva, T.L. no publicadas	NAG232	Marruecos	H8
Silva, T.L. no publicadas	NAG271	Marruecos	H8
Silva, T.L. no publicadas	NAG316	Marruecos	H8
Silva, T.L. no publicadas	NAG443	Túnez	H4
Silva, T.L. no publicadas	NAG450	Túnez	H4
Silva, T.L. no publicadas	NAG461	Túnez	H4
Silva, T.L. no publicadas	NAG504	Túnez	H4
Silva, T.L. no publicadas	NAG543	Túnez	H4
Silva, T.L. no publicadas	NAG602	Túnez	H4
Silva, T.L. no publicadas	NAG603	Túnez	H4
Silva, T.L. no publicadas	NAG604	Túnez	H4
Silva, T.L. no publicadas	NAG1320	Túnez	H4
Silva, T.L. no publicadas	NAG1321	Túnez	H4
Silva, T.L. no publicadas	NAG1322	Túnez	H4

Tabla S3. Caracterización de las secuencias de ADN mitocondrial de **urial** obtenidas del GENBANK e integradas en el análisis filogeográfico.

Autores	Nº genbank	Hap.	Tamaño	Procedencia	subsp	Nº hap.
Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936217.1	OVNo4	1140bp	Irán	O. Vignei	H15
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU365983.1	OvWs1	1140bp	Irán	O.v. Arkal	H4
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU365984.1	OvEs2	1140bp	Irán	O.v. Arkal	H5
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU365993.1	OvaGo1	1140bp	Irán	O.v. Arkal	H6
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU365994.1	OvaGo2	1140bp	Irán	O.v. Arkal	H6
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU365995.1	OvaGo3	1140bp	Irán	O.v. Arkal	H7
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366005.1	OvaTul	1140bp	Irán	orientalis x vignei	H8
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366006.1	OvaTu2	1140bp	Irán	orientalis x vignei	H9
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366007.1	OvaTu3	1140bp	Irán	orientalis x vignei	H10
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366008.1	OvaTu4	1140bp	Irán	O.v. Arkal	H6
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366011.1	OvaSk1	1140bp	Irán	O.v. Arkal	H11
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366012.1	OvaSk2	1140bp	Irán	O.v. Arkal	H12
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366013.1	OvaSk3	1140bp	Irán	O.v. Arkal	H13
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366014.1	OvaSk4	1140bp	Irán	O.v. Arkal	H14
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366017.1	OvkNo1	1140bp	Irán	O.v. Kermanensis	H15
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366018.1	OvkNo2	1140bp	Irán	O. Vignei	H16
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366019.1	OvaPal	1140bp	Irán	orientalis x vignei	H6
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366020.1	OvaPa2	1140bp	Irán	orientalis x vignei	H6
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366021.1	OvaPa3	1140bp	Irán	orientalis x vignei	H17
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366022.1	OvaKa1	1140bp	Irán	O.v. Arkal	H18
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366023.1	OvaKa2	1140bp	Irán	O.v. Arkal	H19
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366024.1	OvaKa3	1140bp	Irán	O.v. Arkal	H18

Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366025.1	OvaKa4	1140bp	Irán	O.v. Arkal	H20
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366026.1	OvkKe1	1140bp	Irán	orientalis x vignei	H21
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366027.1	OvkKe2	1140bp	Irán	orientalis x vignei	H22
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366028.1	OvkKe3	1140bp	Irán	orientalis x vignei	H23
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366029.1	OvkKe4	1140bp	Irán	orientalis x vignei	H24
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366030.1	OvkKe5	1140bp	Irán	orientalis x vignei	H24
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366031.1	OvkYa1	1140bp	Irán	orientalis x vignei	H24
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366032.1	OvkYa2	1140bp	Irán	orientalis x vignei	H25
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366033.1	OvkYa3	1140bp	Irán	orientalis x vignei	H26
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366034.1	OvkYa4	1436bp	Irán	orientalis x vignei	H25
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366035.1	OvkKe6	1140bp	Irán	orientalis x vignei	H27
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366036.1	OvkKe7	1138bp	Irán	O.v. Kermanensis	H18
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366037.1	OvkKe8	1103bp	Irán	O.v. Kermanensis	H18
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366038.1	OvkBa1	1140bp	Irán	O.v. Kermanensis	H28
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366054.1	OvaTa1	1140bp	Irán	O.v. Arkal	H37
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366056.1	OvkNo3	1140bp	Irán	O.v. Kermanensis	H38
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366069.1	OvEs3	1140bp	Irán	O.v. Arkal	H4
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366071.1	OvkNo4	1140bp	Irán	O. Vignei	H15
Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936212.1	OVA12	1140bp	Irán	O.v. Arkal	H6
Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936215.1	OVA4	1140bp	Kazakhstan	O.v. Arkal	H6
Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936216.1	OVC4	1140bp	Pakistan	O.v. Cycloceros	H31
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366049.1	OvvPk1	1140bp	Pakistán	O.v. Vignei	H10
Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936219.1	OVV2	1140bp	Pakistán	O.v. Vignei	H43
Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936220.1	OVV3	1140bp	Pakistán	O.v. Vignei	H43
Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936221.1	OVV4	1140bp	Pakistán	O.v. Vignei	H10
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366039.1		1140bp	Pakistán	O.v. Cycloceros	H29
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366045.1	OvbPk1	1140bp	Pakistán	O.v. Blanfordi	H33
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366046.1	OvbPk2	1140bp	Pakistán	O.v. Blanfordi	H34
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366047.1	OvpPk1	1140bp	Pakistán	O.v. Punjabensis	H35
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366048.1	OvpPk2	1140bp	Pakistán	O.v. Punjabensis	H35
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366050.1	OvbPk3	1140bp	Pakistán	O.v. Blanfordi	H15
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366074.1	OvpPk3	1140bp	Pakistán	O.v. Punjabensis	H40
Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936218.1	OVP4	1140bp	Pakistán	O.v. Punjabensis	H42
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366043.1	OvcPk1	1140bp	Pakistan	O.v. Cycloceros	H31
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366044.1	OvcPk2	1140bp	Pakistan	O.v. Cycloceros	H32
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366042.1	OvbTj1	1140bp	Tajikistan	O.v.bocharensis	H30
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366052.1	OvbTj2	1140bp	Tajikistan	O.v.bocharensis	H36
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366072.1	OvTj1	1140bp	Tajikistan	O.v. Arkal	H39
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366041.1	OvaTm1	1140bp	Turkmenistan	O.v. Arkal	H1
Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936213.1	OVA17	1140bp	Turkmenistan	O.v. Arkal	H41
Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936214.1	OVA18	1140bp	Turkmenistan	O.v. Arkal	H6
Meadows,J.R. Et al 2011	HM236189.1	h78	16696bp	Kazakhstan	O. Vignei	H30
Meadows,J.R. Et al 2011	HM236187.1	h76	16694bp	Kazakhstan	O. Vignei	H1
Meadows,J.R. Et al 2011	HM236186.1	h75	16694bp	Kazakhstan	O. Vignei	H1

Tabla S4. Caracterización de las secuencias de ADN mitocondrial de oveja obtenidas del GENBANK e integradas en el análisis filogeográfico.

Authors	Nº genbank	GI	Haplotipo	Tamaño	Procedencia	Nº hap.
Al-Harbi,M.S. et al 2013	KC689756.1	571024930	Sawakni5	491bp	Arabia saudí	H27
Al-Harbi,M.S. et al 2013	KC689757.1	571024932	Sawakni4	491bp	Arabia saudí	H27
Al-Harbi,M.S. et al 2013	KC689758.1	571024934	Sawakni3	491bp	Arabia saudí	H27
Al-Harbi,M.S. et al 2013	KC689759.1	571024936	Sawakni2	491bp	Arabia saudí	H27
Al-Harbi,M.S. et al 2013	KC689760.1	571024938	Sawakni1	491bp	Arabia saudí	H27
Al-Harbi,M.S. et al 2013	KC689761.1	571024940	Naemi5	491bp	Arabia saudí	H27
Al-Harbi,M.S. et al 2013	KC689762.1	571024942	Naemi4	488bp	Arabia saudí	H27
Al-Harbi,M.S. et al 2013	KC689763.1	571024944	Naemi3	488bp	Arabia saudí	H27
Al-Harbi,M.S. et al 2013	KC689764.1	571024946	Naemi2	488bp	Arabia saudí	H27
Al-Harbi,M.S. et al 2013	KC689765.1	571024948	Naemi1	488bp	Arabia saudí	H27
Al-Harbi,M.S. et al 2013	KC689766.1	571024950	Najdi4	488bp	Arabia saudí	H27
Al-Harbi,M.S. et al 2013	KC689767.1	571024952	Najdi3	488bp	Arabia saudí	H27
Al-Harbi,M.S. et al 2013	KC689768.1	571024954	Najdi1	488bp	Arabia saudí	H27
Al-Harbi,M.S. et al 2013	KC689769.1	571024956	Heri5	488bp	Arabia saudí	H27
Al-Harbi,M.S. et al 2013	KC689770.1	571024958	Heri4	492bp	Arabia saudí	H27
Al-Harbi,M.S. et al 2013	KC689771.1	571024960	Heri3	492bp	Arabia saudí	H27
Al-Harbi,M.S. et al 2013	KC689772.1	571024962	Heri2	492bp	Arabia saudí	H27
Al-Harbi,M.S. et al 2013	KC689773.1	571024964	Heri1	492bp	Arabia saudí	H27
Burgstaller,J.P. Et al 2007	EF490451.1	158187235	7G65F4	16617bp	Inglaterra	H24
Burgstaller,J.P. Et al 2007	EF490452.1	158187249	OLL4	16617bp	Inglaterra	H2
Burgstaller,J.P. Et al 2007	EF490453.1	158187263	OLL16	16617bp	Inglaterra	H2
Burgstaller,J.P. Et al 2007	EF490454.1	158187277	Oe173	16617bp	Inglaterra	H2
Burgstaller,J.P. Et al 2007	EF490455.1	158187291	1LL2	16617bp	Inglaterra	H25
Burgstaller,J.P. Et al 2007	EF490456.1	158187305	OLL15	16617bp	Inglaterra	H2
Chen,S.Y. Et al 2006	DQ309016.1	83659319	OAxj015	1140bp	China	H7
Chen,S.Y. Et al 2006	DQ309017.1	83659321	OAxj051	1140bp	China	H17
Chen,S.Y. Et al 2006	DQ309018.1	83659323	OAxj070	1140bp	China	H14
Chen,S.Y. Et al 2006	DQ309019.1	83659325	OAxj183	1140bp	China	H2
Chen,S.Y. Et al 2006	DQ309020.1	83659327	OAxj190	1140bp	China	H2
Chen,S.Y. Et al 2006	DQ309021.1	83659329	OAcq2510	1140bp	China	H7
Demirci, S. et al 2013	KF677294.1	565672773	AKK_39	1042bp	Turquía	H26
Demirci, S. et al 2013	KF677295.1	565672775	GOK_8	1042bp	Turquía	H2
Demirci, S. et al 2013	KF677296.1	565672777	DAG_21	1042bp	Turquía	H35
Demirci, S. et al 2013	KF677297.1	565672779	DAG_36	1042bp	Turquía	H16
Demirci, S. et al 2013	KF677298.1	565672781	IVE_14	1042bp	Turquía	H14
Demirci, S. et al 2013	KF677299.1	565672783	HER_24	1042bp	Turquía	H7
Demirci, S. et al 2013	KF677300.1	565672785	NOR_18	1042bp	Turquía	H14
Demirci, S. et al 2013	KF677301.1	565672787	NOR_45	1042bp	Turquía	H26
Demirci, S. et al 2013	KF677302.1	565672789	HEM_17	1042bp	Turquía	H2
Demirci, S. et al 2013	KF677303.1	565672791	MRK_24	1042bp	Turquía	H16
Lancioni,H. Et al 2013	KF302447.1	528748530	LA021	16617bp	Francia	H29
Lancioni,H. Et al 2013	KF302453.1	528748614	LA068	16617bp	Francia	H2
Lancioni,H. Et al 2013	KF302460.1	528748712	LA047	16617bp	Francia	H2

Lancioni,H. Et al 2013	KF302440.1	528748432	CO014	16618bp	Italia	H28
Lancioni,H. Et al 2013	KF302441.1	528748446	CO015	16618bp	Italia	H28
Lancioni,H. Et al 2013	KF302442.1	528748460	CO020	16618bp	Italia	H28
Lancioni,H. Et al 2013	KF302443.1	528748474	CO021	16618bp	Italia	H28
Lancioni,H. Et al 2013	KF302444.1	528748488	CO026	16618bp	Italia	H28
Lancioni,H. Et al 2013	KF302445.1	528748502	CO017	16618bp	Italia	H28
Lancioni,H. Et al 2013	KF302446.1	528748516	MI066	16617bp	Italia	H7
Lancioni,H. Et al 2013	KF302448.1	528748544	GP117	16617bp	Italia	H30
Lancioni,H. Et al 2013	KF302449.1	528748558	SO006	16618bp	Italia	H31
Lancioni,H. Et al 2013	KF302450.1	528748572	AP038	16618bp	Italia	H31
Lancioni,H. Et al 2013	KF302451.1	528748586	AP053	16618bp	Italia	H31
Lancioni,H. Et al 2013	KF302452.1	528748600	CO002	16617bp	Italia	H2
Lancioni,H. Et al 2013	KF302454.1	528748628	SO012	16617bp	Italia	H32
Lancioni,H. Et al 2013	KF302455.1	528748642	GP092	16617bp	Italia	H32
Lancioni,H. Et al 2013	KF302456.1	528748656	SO030	16617bp	Italia	H2
Lancioni,H. Et al 2013	KF302457.1	528748670	GP105	16617bp	Italia	H2
Lancioni,H. Et al 2013	KF302458.1	528748684	SO009	16617bp	Italia	H2
Lancioni,H. Et al 2013	KF302459.1	528748698	MI075	16617bp	Italia	H2
Lancioni,H. Et al 2013	KF302461.1	528748726	CO027	16617bp	Italia	H33
Lancioni,H. Et al 2013	KF302462.1	528748740	CO046	16617bp	Italia	H34
Meadows,J.R. Et al 2011	HM236174.1	298110621	cl112	16617bp	Australia	H7
Meadows,J.R. Et al 2011	HM236175.1	298110635	r359	16617bp	Australia	H7
Meadows,J.R. Et al 2011	HM236182.1	298110733	aw25	16620bp	Israel	H16
Meadows,J.R. Et al 2011	HM236176.1	298110649	kk1	16616bp	Turquía	H2
Meadows,J.R. Et al 2011	HM236177.1	298110663	kk2	16616bp	Turquía	H2
Meadows,J.R. Et al 2011	HM236178.1	298110677	kk12	16620bp	Turquía	H12
Meadows,J.R. Et al 2011	HM236179.1	298110691	mk4	16620bp	Turquía	H12
Meadows,J.R. Et al 2011	HM236180.1	298110705	mk3	16616bp	Turquía	H26
Meadows,J.R. Et al 2011	HM236181.1	298110719	mk9	16616bp	Turquía	H26
Meadows,J.R. Et al 2011	HM236183.1	298110747	tj6	16619bp	Turquía	H16
Pedrosa,S. et al 2005	FJ936211.1	282767472	TUJ14	1140bp	Turquía	H2
Pedrosa,S. et al 2005	DQ097408.1	73476677	KAR13	1140bp	Turquía	H2
Pedrosa,S. et al 2005	DQ097409.1	73476679	HEM13	1140bp	Turquía	H8
Pedrosa,S. et al 2005	DQ097410.1	73476681	HEM6	1140bp	Turquía	H2
Pedrosa,S. et al 2005	DQ097421.1	73476703	MOR11	1140bp	Turquía	H7
Pedrosa,S. et al 2005	DQ097422.1	73476705	MOR13	1140bp	Turquía	H7
Pedrosa,S. et al 2005	DQ097411.1	73476683	TUJ11	1140bp	Turquía	H9
Pedrosa,S. et al 2005	DQ097412.1	73476685	AKA02	1140bp	Turquía	H10
Pedrosa,S. et al 2005	DQ097413.1	73476687	TUJ12	1140bp	Turquía	H2
Pedrosa,S. et al 2005	DQ097414.1	73476689	TUJ08	1140bp	Turquía	H2
Pedrosa,S. et al 2005	DQ097415.1	73476691	AKA01	1140bp	Turquía	H7
Pedrosa,S. et al 2005	DQ097416.1	73476693	KAR09	1140bp	Turquía	H7
Pedrosa,S. et al 2005	DQ097417.1	73476695	KAR04	1140bp	Turquía	H7
Pedrosa,S. et al 2005	DQ097418.1	73476697	MOR04	1140bp	Turquía	H11
Pedrosa,S. et al 2005	DQ097419.1	73476699	MOR02	1140bp	Turquía	H7
Pedrosa,S. et al 2005	DQ097420.1	73476701	MOr09	1140bp	Turquía	H7

Pedrosa,S. et al 2005	DQ097423.1	73476707	AKA06	1140bp	Turquía	H12
Pedrosa,S. et al 2005	DQ097424.1	73476709	HEM01	1140bp	Turquía	H12
Pedrosa,S. et al 2005	DQ097425.1	73476711	KAR02	1140bp	Turquía	H12
Pedrosa,S. et al 2005	DQ097426.1	73476713	AKA07	1140bp	Turquía	H13
Pedrosa,S. et al 2005	DQ097427.1	73476715	AKA10	1140bp	Turquía	H14
Pedrosa,S. et al 2005	DQ097428.1	73476717	KAR13	1140bp	Turquía	H15
Pedrosa,S. et al 2005	DQ097429.1	73476719	MOR12	1140bp	Turquía	H14
Pedrosa,S. et al 2005	DQ097430.1	73476721	KAR15	1140bp	Turquía	H16
Wang,X. Et al 2006	DQ903208.1	115285605	BSB3	1140bp	China	H7
Wang,X. Et al 2006	DQ903209.1	115285607	BSB7	1140bp	China	H14
Wang,X. Et al 2006	DQ903210.1	115285609	BSB22	1140bp	China	H2
Wang,X. Et al 2006	DQ903211.1	115285611	GJ12	1140bp	China	H7
Wang,X. Et al 2006	DQ903212.1	115285613	GJ14	1140bp	China	H2
Wang,X. Et al 2006	DQ903213.1	115285615	HN31	1140bp	China	H18
Wang,X. Et al 2006	DQ903214.1	115285617	HN32	1140bp	China	H19
Wang,X. Et al 2006	DQ903215.1	115285619	HN36	1140bp	China	H7
Wang,X. Et al 2006	DQ903216.1	115285621	HZ1	1140bp	China	H7
Wang,X. Et al 2006	DQ903217.1	115285623	HZ2	1140bp	China	H2
Wang,X. Et al 2006	DQ903218.1	115285625	LZ5	1140bp	China	H20
Wang,X. Et al 2006	DQ903219.1	115285627	LZ6	1140bp	China	H21
Wang,X. Et al 2006	DQ903220.1	115285629	LZ10	1140bp	China	H2
Wang,X. Et al 2006	DQ903221.1	115285631	OL33	1140bp	China	H2
Wang,X. Et al 2006	DQ903222.1	115285633	QP6	1140bp	China	H22
Wang,X. Et al 2006	DQ903223.1	115285635	QP9	1140bp	China	H14
Wang,X. Et al 2006	DQ903224.1	115285637	QP11	1140bp	China	H2
Wang,X. Et al 2006	DQ903225.1	115285639	SFK25	1140bp	China	H23
Wang,X. Et al 2006	DQ903226.1	115285641	SFK30	1140bp	China	H2
Wang,X. Et al 2006	DQ903227.1	115285643	TSK18	1140bp	China	H2

Tabla S5. Caracterización de las secuencias de ADN mitocondrial de **muflón** obtenidas del GENBANK e integradas en el análisis filogeográfico.

Authors	Nº genbank	GI	Hap.	Tamaño	Procedencia	Subsp	Nº Hap.
Barbanera,F. Et al 2011	FR873150.1	359464671	H2	1140bp	Italia	O. Musimon	H21
Barbanera,F. Et al 2011	FR873151.1	359464673	H3	1140bp	Italia	O. Musimon	H2
Barbanera,F. Et al 2011	FR873152.1	359464675	H4	1140bp	Italia	O. Musimon	H1
Guerrini,M., et al 2015	LN651260.1	781791801	H2	1042bp	Italia	O. Musimon	H2
Guerrini,M., et al 2015	LN651261.1	781791808	H3	1042bp	Italia	O. Musimon	H22
Guerrini,M., et al 2015	LN651262.1	781791812	H4	1042bp	Italia	O. Musimon	H6
Guerrini,M., et al 2015	LN651263.1	781791826	H5	1042bp	Italia	O. Musimon	H1
Guerrini,M., et al 2015	LN651264.1	781791832	H6	1042bp	Italia	O. Musimon	H1
Guerrini,M., et al 2015	LN651265.1	781791855	H7	1042bp	Italia	O. Musimon	H1
Guerrini,M., et al 2015	LN651266.1	781791857	H8	1042bp	Italia	O. Musimon	H21
Guerrini,M., et al 2015	LN651267.1	781791863	H9	1042bp	Italia	O. Musimon	H23

Guerrini,M., et al 2015	LN651268.1	781791867	H10	1042bp	Italia	O. Musimon	H23
Meadows,J.R. Et al 2011	HM236184.1	298110761	h1	16616bp	Alemania	O. Musimon	H1
Meadows,J.R. Et al 2011	HM236185.1	298110775	h2	16616bp	Alemania	O. Musimon	H1
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366040.1	178925255	OogAr1	1140bp	Armenia	O.o.gmelinni	H4
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU365975.1	178925130	OogMk1	1140bp	Irán	O.o.gmelinni	H1
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU365976.1	178925132	OoiAz2	1140bp	Irán	O.o. Ishpanica	H3
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU365979.1	178925138	OogSn1	1140bp	Irán	O.o.gmelinni	H4
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU365980.1	178925140	OogSn2	1140bp	Irán	O.o.gmelinni	H4
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU365988.1	178925156	OoGMk2	1140bp	Irán	O.o.gmelinni	H5
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU365989.1	178925158	OogMk3	1140bp	Irán	O.o.gmelinni	H5
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU365991.1	178925162	OogKh1	1140bp	Irán	O.o.gmelinni	H7
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU365996.1	178925172	OogBi1	1140bp	Irán	O.o.gmelinni	H4
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU365997.1	178925174	OogBi2	1140bp	Irán	O.o.gmelinni	H8
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU365998.1	178925176	OoGMk4	1140bp	Irán	O.o.gmelinni	H9
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU365999.1	178925178	OogMk5	1137bp	Irán	O.o.gmelinni	H5
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366000.1	178925179	OogMk6	1140bp	Irán	O.o.gmelinni	H9
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366001.1	178925181	OogMk7	1140bp	Irán	O.o.gmelinni	H5
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366002.1	178925183	OogZa1	1140bp	Irán	O.o.gmelinni	H10
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366003.1	178925185	OogGa1	1140bp	Irán	O.o.gmelinni	H11
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366004.1	178925187	OogMa1	1140bp	Irán	O.o.gmelinni	H4
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366009.1	178925197	OogKh2	1140bp	Irán	O.o.gmelinni	H11
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366015.1	178925208	OogMa2	1135bp	Irán	O.o.gmelinni	H4
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366016.1	178925210	OgiAz1	1140bp	Irán	O.o. Ishpanica	H13
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366053.1	178925280	OogGa2	1140bp	Irán	O.o.gmelinni	H7
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366055.1	178925284	OoiAz3	1140bp	Irán	O.o. Ishpanica	H14
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366068.1	178925309	OogKh3	1140bp	Irán	O.o.gmelinni	H15
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366070.1	178925313	OogMk8	1140bp	Irán	O.o.gmelinni	H5
Rezaei,H.R. Et al 2009	EU366073.1	178925318	OogGa3	1140bp	Irán	O.o.gmelinni	H11
Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936186.1	282767422	OOG11	1140bp	Irán	O.o.gmelinni	H4
Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936187.1	282767424	OOG12	1140bp	Irán	O.o.gmelinni	H8
Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936188.1	282767426	OOG13	1140bp	Irán	O.o.gmelinni	H3
Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936189.1	282767428	OOG15	1140bp	Irán	O.o.gmelinni	H4
Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936190.1	282767430	OOG2	1140bp	Irán	O.o.gmelinni	H5
Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936191.1	282767432	OOG22	1140bp	Irán	O.o.gmelinni	H5
Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936192.1	282767434	OOG23	1140bp	Irán	O.o.gmelinni	H5
Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936193.1	282767436	OOG25	1140bp	Irán	O.o.gmelinni	H4
Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936194.1	282767438	OOG26	1140bp	Irán	O.o.gmelinni	H3
Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936195.1	282767440	OOG27	1140bp	Irán	O.o.gmelinni	H8
Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936196.1	282767442	OOG3	1140bp	Irán	O.o.gmelinni	H5
Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936197.1	282767444	OOG31	1140bp	Irán	O.o.gmelinni	H4
Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936200.1	282767450	OOG4	1140bp	Irán	O.o.gmelinni	H17
Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936201.1	282767452	OOG5	1140bp	Irán	O.o.gmelinni	H17
Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936202.1	282767454	OOG8	1140bp	Irán	O.o.gmelinni	H5
Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936203.1	282767456	OOG9	1140bp	Irán	O.o.gmelinni	H4
Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936204.1	282767458	Ooi3	1140bp	Irán	O.o. Ishpanica	H3
Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936205.1	282767460	Ooi5	1140bp	Irán	O.o. Laristanica	H12

Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936206.1	282767462	OoI6	1140bp	Irán	O.o. Laristanica	H12
Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936207.1	282767464	Ooko1	1140bp	Irán	O.orientalis	H18
Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936208.1	282767466	OOkO2	1140bp	Irán	O.orientalis	H19
Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936209.1	282767468	OOL1	1140bp	Irán	O.o. Laristanica	H4
Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936210.1	282767470	OOL2	1140bp	Irán	O.o. Laristanica	H5
Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936211.1	282767472	OOS1	1140bp	Irán	O.orientalis	H20
Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936185.1	282767420	OOA3	1140bp	Turquía	O.o.anatolicq	H16
Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936198.1	282767446	OOG32	1140bp	Turquía	O.o.gmelinni	H3
Rezaei,H.R. Et al 2009	FJ936199.1	282767448	OOG33	1140bp	Turquía	O.o.gmelinni	H3
Rezaei,H.R.et al 2009	EU366010.1	178925199	Ooils1	1140bp	Francia	O.o.ishpanica	H12
Rezaei,H.R.et al 2009	EU365990.1	178925160	OomFr2	1140bp	Francia	O. Musimon	H6
Rezaei,H.R.et al 2009	EU365977.1	178925134	OomFr1	1140bp	Francia	O. Musimon	H2

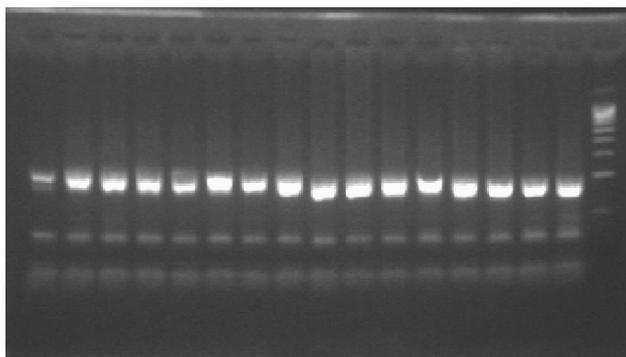


Figura S1. Gel de agarosa al 2% de concentración testando la amplificación del producto de la PCR de microsatélites. En el último pocillo está el marcador de peso molecular “ladder L5”.

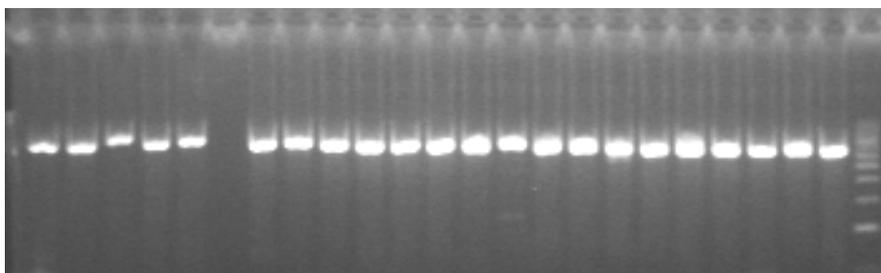


Figura S2. Gel de agarosa al 2% de concentración testando la amplificación del producto de la PCR mitocondrial. En el último pocillo de cada línea está el marcador de peso molecular “ladder L5”.