UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TECNOLÓGICAS

POSGRADO EN BIOCIENCIAS

VARIABILIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA EN POBLACIONES DE LA CODORNIZ MOCTEZUMA *Cyrtonyx montezumae* EN EL LÍMITE NORTE DE SU DISTRIBUCIÓN

TESIS

Para obtener el grado de:
MAESTRO EN BIOCIENCIAS

Presenta:

EDUARDO SÁNCHEZ MURRIETA

Hermosillo, Sonora **Enero de 2020**

VARIABILIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA EN POBLACIONES DE LA CODORNIZ MOCTEZUMA *Cyrtonyx montezumae* EN EL LÍMITE NORTE DE SU DISTRIBUCIÓN

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN BIOCIENCIAS

PRESENTA:

EDUARDO SÁNCHEZ MURRIETA

HERMOSILLO, SONORA, MÉXICO. A 8 DE ENERO DE 2020

APROBACIÓN

Los miembros del Comité designado para revisar la tesis titulada: Variabilidad y estructura genética de la codorniz Moctezuma *Cyrtonyx montezumae* en el límite norte de su distribución, presentada por el estudiante Eduardo Sánchez Murrieta, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada cono requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Biociencias.

[FIRMADO]

Dra. Reyna A. Castillo Gámez
Directora

[FIRMADO]

Dr. Alberto Macías Duarte
Co-director

[FIRMADO]

M.C. Nohelia G. Pacheco Hoyos
Secretario

[FIRMADO]

Dr. Alejandro Varela Romero
Sinodal interno

[FIRMADO]

Dr. Carlos H. Alcalá Galván
Sinodal interno

[FIRMADO]

Dr. Pedro M. Chavarria
Sinodal externo

DEDICATORIA

A mi familia,
Todo lo que soy es gracias a ustedes

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Dr. Alberto Macías Duarte por el apoyo total y la confianza brindada en todo momento. A la Dra. Reyna A. Castillo Gámez por las palabras de aliento en momentos complicados y por siempre estar al pendiente de todos los detalles académicos durante mi estancia en el posgrado. Al Dr. Alejandro Varela Romero por sus valiosas enseñanzas y paciencia para introducirme al mundo de la Ecología Molecular. A los miembros del comité de tesis, M.C. Nohelia Pacheco Hoyos, Dr. Carlos H. Alcalá Galván y Dr. Pedro Chavarría por sus puntuales comentarios y sugerencias para mejorar la calidad de esta investigación, los cuales de igual manera han sido muy valiosos para fortalecer mi formación académica. Sin duda, es una motivación trabajar al lado de profesionales como ustedes.

Agradezco a Arizona Quail Alliance, New Mexico Quail, Southern Arizona Quail Forever, Texas Parks and Wildlife Department, Timken Foundation, y a Pheasants Forever y Quail Forever en Texas por el apoyo financiero a esta investigación. Agradezco especialmente la contribución de Angel B. Montoya del United States Fish and Wildlife Service en su ardua colección de especímenes de codorniz Moctezuma y por su apoyo logístico crucial. De igual forma, agradezco a Robert Perez de Texas Parks and Wildife Department por su ayuda logística y financiera que hizo posible la colección de especímenes en Texas. Agradezco también a los cazadores voluntarios que colectaron o nos ayudaron a colectar especímenes incluyendo May Dennis, Randy Gray, Steve Hopkins, Dennis Kavanagh, Mike Sullins, Ray Trejo, James Weaver y diversos cazadores anónimos.

A Gabriela Valenzuela, Karen Ruíz y Oscar López por el apoyo brindado en el trabajo de laboratorio en distintas etapas del proyecto, sin duda, han sido una pieza clave para un mejor desarrollo de esta investigación. A pesar de que no fue directamente en el proyecto, una parte muy importante ha sido el conjunto de enseñanzas y conocimientos sobre el trabajo de laboratorio que un servidor obtuvo de parte de todos los miembros del laboratorio de Ecología Molecular del Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora (DICTUS). Es por esto qué quiero hacer una mención especial para todos ellos,

quienes con amabilidad y paciencia supieron encaminarme para poder salir adelante con el proyecto. Además del conocimiento, me llevo grandes amistades.

A mis compañeros de generación del Posgrado en Biociencias y del DICTUS, en especial a aquellos que se convirtieron en mis entrañables amigos con los cuales he compartido grandiosos momentos (no los menciono uno por uno, pero ellos saben quiénes son), lo que sin duda hizo más confortable y amena mi estancia en el posgrado.

Por último, quiero agradecer al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), al Posgrado en Biociencias y al DICTUS por su apoyo para poder realizar mis estudios de maestría.

RESUMEN

La distribución espacial de la variabilidad genética es influenciada por distintos factores tales como: el rango de distribución de la especie, la capacidad de dispersión, el sistema de apareamiento, migración, entre otros. Una baja tasa de migración entre las poblaciones de una especie puede ocasionar una disminución de la variación genética. Tal es el caso de la codorniz Moctezuma (*Cyrtonyx montezumae*), una especie de interés cinegético con una limitada capacidad de vuelo que le restringe el desplazamiento a grandes distancias. En el límite norte de su distribución en Arizona, Nuevo México y Texas en Estados Unidos, la especie habita bosques de encino separados entre sí por amplias áreas desérticas, lo que genera que la población esté distribuida en parches o islas. El conocimiento de la estructura genética poblacional de la especie y las posibles consecuencias de ese acomodo espacial son fundamentales para realizar un mejor manejo de esta. En este sentido, el objetivo de este esta investigación es la determinación de patrones de variación genética en poblaciones de *Cyrtonyx montezumae* mediante el uso de loci microsatelitales. Se utilizaron nueve loci diseñados para *Colinus virginianus* en 119 muestras provenientes de la cacería legal en Nuevo México, Arizona y Texas en Estados Unidos. Las muestras fueron divididas en cuatro poblaciones Arizona (AZ), Nuevo México Oeste (NMW), Nuevo México Este (NME) y Texas Oeste (TXW). A nivel global, las poblaciones analizadas mostraron bajos valores de heterocigosidad observada ($H_o = 0.22 \pm 0.04$) y número de alelos por locus ($A = 2.41 \pm 0.27$) en comparación con otras aves. El índice de diferenciación genética poblacional R_{ST} global tuvo un valor de 0.045, sugiriendo una débil estructura genética. Los valores más altos para R_{ST} ocurrieron entre las poblaciones de AZ-TXW, AZ-NME y NMW-TXW. Los resultados del análisis de asignación bayesiana indican que las muestras se separan en tres grupos (K=3), ubicando a las poblaciones de Arizona y Texas en dos grupos distintos y aparte de las dos poblaciones de Nuevo México, las cuales se encuentran en el mismo grupo. A pesar de estar diferenciadas entre sí, el análisis de asignación bayesiana sugiere la mezcla de los individuos entre las poblaciones, lo que puede ser un indicador de que existe migración entre ellas, especialmente entre las poblaciones de Nuevo México y Arizona. La prueba de aislamiento por distancia indica que existe una fuerte

correlación ($R^2 = 0.84$) y evidencia sugestiva ($p = 0.08$) de no independencia entre la distancia geográfica y la distancia genética de las poblaciones, por lo que es probable que las poblaciones de la codorniz Moctezuma en el suroeste de Estados Unidos no se encuentren aisladas totalmente. No obstante, las proyecciones climáticas indican un aumento en las condiciones de aridez en esta región, especialmente en las zonas de climas templados como lo son los ecosistemas de encinares abiertos donde ocurre la especie. En este escenario, es posible que desaparezcan las zonas que pueden estar funcionando como corredores entre las poblaciones, ocasionando así un mayor aislamiento de la especie.

ABSTRACT

The spatial distribution of genetic variability is influenced by different factors such as: range of distribution of the species, dispersal capacity, mating system, migration, among others. A low migration rate between populations of a species can cause a decrease in genetic variation. Such is the case of the Montezuma quail (*Cyrtonyx montezumae*), a popular game bird with a limited flight capacity that prevents it move large distances. In the northern limit of its distribution in Arizona, New Mexico and Texas in the United States, the species inhabits oak forests separated from each other by wide desert areas, causing the population to be distributed in patches or islands. In order to establish proper population management, it is important to know the population's genetic structure as well as causes for the spatial arrangements. Therefore, the objective of this study is the determination of genetic variation patterns in populations of *Cyrtonyx montezumae* through the use of microsatelitals loci. Nine loci designed for *Colinus virginianus* were used in 119 samples from legal hunting in New Mexico, Arizona and Texas in the United States. The samples were divided into four populations Arizona (AZ), New Mexico West (NMW), New Mexico East (NME) and West Texas (TXW). At a global perspective, the populations analyzed presented low values of observed heterozygosity ($H_o = 0.22 \pm 0.04$) and number of alleles per locus ($A = 2.41 \pm 0.27$) compared to other bird species. The global population genetic differentiation index R_{ST} had a value of 0.045, suggesting a weak genetic structure. The highest values for R_{ST} occurred between the populations of AZ-TXW, AZ-NME and NMW-TXW. The results of the Bayesian allocation analysis indicate that the samples are separated into three groups (K = 3) placing the populations of Arizona and Texas in different groups apart from the two populations of New Mexico, which are in the same group. Despite being differentiated from each other, the Bayesian allocation analysis suggests the mixture of individuals between populations, which may be an indicator of the existence of migration between them, especially between the populations of New Mexico and Arizona. The distance isolation test indicates that there is a strong correlation ($R^2 = 0.84$) and suggestive evidence ($p = 0.08$) of non-independence between the geographical distance and the genetic distance of the populations. However, it is likely that the populations of the Montezuma quail in the

southwestern United States are not completely isolated, nevertheless, climate projections indicate an increase in aridity conditions in this region, especially in temperate climates such the ecosystems where the species occurs. Therefore, it is possible that the areas that may be functioning as corridors between the populations disappear causing their complete isolation.

ÍNDICE GENERAL

APROBACIÓN i

AGRADECIMIENTOS iii

RESUMEN v

ABSTRACT vii

ÍNDICE DE FIGURAS xi

ÍNDICE DE TABLAS xii

INTRODUCCIÓN 1

I. ANTECEDENTES 4

I.1. Historia natural de la especie 4

I.2. Ámbito hogareño y movimientos 6

I.3. Aprovechamiento y manejo de la especie 7

I.4. Variabilidad genética en las codornices del nuevo mundo 8

II. HIPÓTESIS 10

III. OBJETIVOS 11

III.1. Objetivo general 11

III.2. Objetivos específicos 11

IV. MATERIALES Y MÉTODOS 12

IV.1. Colecta de muestras 12

IV.2. Genotipeado de microsatélites 12

IV.2.1. Extracción de ADN y PCR 12

IV.2.2. Lectura de fragmentos 16

IV.3. Análisis estadístico 16

IV.3.1. Variabilidad genética 16

IV.3.2. Estructura y diferenciación genética poblacional....17
IV.3.2. Aislamiento por distancia....18
V. RESULTADOS....19
V.1. Genotipeado de microsatélites....19
V.2. Variabilidad genética....19
V.3. Estructura y diferenciación genética poblacional....21
V.4. Aislamiento por distancia....24
VI. DISCUSIÓN....26
VII. CONCLUSIONES....32
VIII. RECOMENDACIONES....33
IX. LITERATURA CITADA....34
X. APÉNDICES....40
APÉNDICE I....40
APÉNDICE II....40

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA		PÁGINA
1	Individuos de *Cyrtonyx montezumae*.	5
2	Distribución geográfica actual de *C. montezumae.*	5
3	Ubicación de los sitios de colecta de los individuos de *C. montezumae.*	13
4	Estimación de número de grupos a partir de las probabilidades de asignación bayesiana.	22
5	Asignación bayesiana obtenida para cada individuo de *C. montezumae.*	23
6	Mapa donde se indica la asignación proporcional de individuos de *C. montezumae* a cada grupo y población.	23
7	Correlación entre la distancia geográfica y los valores del estadístico R_{ST} para cada par de poblaciones.	25

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA		PÁGINA
1	Localidad, cantidad y año de colecta de los individuos de *C. montezumae.*	13
2	Lista de loci microsatelitales utilizados.	15
3	Arreglo multiplex utilizado para enviar los productos de PCR al análisis de fragmentos.	16
4	Estimadores de variabilidad genética para cada locus microsatelital en las poblaciones de *C. montezumae*	20
5	Valores del índice de diferenciación genética entre las poblaciones de *C. montezumae*	22
6	Análisis de varianza molecular (AMOVA) para las poblaciones de *C. montezumae* en Arizona, Nuevo México y Texas.	24

INTRODUCCIÓN

Las variaciones fisiológicas, morfológicas y conductuales existentes entre las especies y entre los individuos de una misma especie tienen su origen en la información genética propia de cada una. La mayoría de estas pueden estar dadas por la variabilidad genética, la cual consiste en variaciones entre secuencias de ADN de distintos individuos (Eguiarte *et al.*, 2007). Estas variaciones pueden ocasionar que la misma característica morfológica o función del organismo se manifieste de distinta manera entre individuos (Hedrick, 2011). De esta manera, dicha variabilidad les brinda a las especies la posibilidad de enfrentar cambios ambientales y biológicos (por ejemplo, cambios en la temperatura y/o precipitación, competencia, depredación, enfermedades) para persistir a través del tiempo (Allendorf y Luikart, 2007).

La distribución espacial de la variabilidad genética está influenciada por distintos factores como el rango de distribución de la especie, capacidad de dispersión, su sistema de apareamiento, la migración, entre otros (Manel *et al*., 2003). A su vez, estos fenómenos determinan en mayor o menor medida el aumento o disminución de la variabilidad genética dentro y entre las poblaciones de una especie (Menger *et al.*, 2017). Una baja tasa de migración dentro de las poblaciones de una especie puede ocasionar una disminución de la variación genética (Frankham, 1996). Esto tiende a reducir la capacidad de adaptación a cambios ambientales extremos en los individuos de una población. Lo anterior puede traer como consecuencia un efecto negativo en la supervivencia a largo plazo de las metapoblaciones de la especie (Arif y Khan, 2008). De igual manera, la pérdida de variación genética en las poblaciones reduce su éxito a causa de la disminución de la adecuación individual promedio (Reed y Frankham, 2003).

La disminución de la variación genética puede estar dada también por la reducción de los tamaños poblacionales de las especies. Diversos factores naturales y antropogénicos son la causa de esta reducción. Sin embargo, la mayor afectación proviene de actividades desarrolladas por el humano (Frankham, 1996). La destrucción y fragmentación de los hábitats naturales, así

como la sobreexplotación de especies con valor económico, quizá representan las principales amenazas para la persistencia de las poblaciones silvestres (Templeton *et al*., 1990).

Actualmente, la reducción de los tamaños poblacionales de muchas poblaciones de fauna silvestre ha ocasionado que dichas especies no posean una distribución geográfica continua. Estas pueden estar separadas geográficamente y formar grupos reproductivos que se pueden diferenciar unos de otros (Allendorf *et al*., 2008). A su vez, la fragmentación puede ocasionar el aislamiento de los grupos reproductivos disminuyendo el intercambio de individuos. Los individuos pertenecientes a fragmentos poblacionales aislados geográficamente del resto de la distribución de la especie pueden presentar adaptaciones locales a las condiciones ambientales de un sitio determinado (Kawecki y Ebert, 2004). Por lo tanto, una sobreexplotación de esa población pudiera ocasionar la extirpación de la especie en ese lugar, ya que individuos de otras regiones no tendrían la capacidad de adaptarse a las condiciones de ese sitio (Caballero y Toro, 2002).

En el caso de la fauna silvestre, el aprovechamiento cinegético es una actividad productiva que impacta directamente las poblaciones de distintas especies. La constante extracción de individuos de una población puede ser sinónimo de pérdida de información genética (Harris *et al*., 2002). Como consecuencia, si no existe un control sobre esta extracción, la actividad cinegética puede generar cambios en el pool genético que pueden tener un efecto sobre las tasas de cosecha o inclusive pueden incrementar el riesgo de extinción de algunas especies (Allendorf *et al*., 2008). Es por esto que conocer la variabilidad genética de las poblaciones explotadas es de gran importancia para realizar su manejo sustentable.

Tal es el caso de la codorniz Moctezuma (*Cyrtonyx montezumae* Vigors 1830), una especie de interés cinegético con una limitada capacidad de vuelo que le impide desplazarse grandes distancias (Stromberg, 1990). Aunado a esto, en el límite norte de su distribución en Arizona, Nuevo México y Texas en Estados Unidos, la especie habita bosques de encino separados entre sí por amplias áreas desérticas, lo que genera que la población esté distribuida en parches o islas (Stromberg, 2000). Durante el invierno la especie es cazada en Arizona y Nuevo México (Stromberg, 2000; Leopold y McCabe, 1957). Sin embargo, a pesar de ser una especie de interés cinegético, no se tiene información respecto a su genética poblacional. Por lo

que, el conocimiento de los patrones de variación genética poblacional pudiera significar una herramienta importante al momento de determinar distintas acciones de manejo, tales como posibles translocaciones de individuos o la restricción de la cacería en ciertas áreas y años.

El patrón de distribución geográfica en parches que presenta *C. montezumae* en el límite norte de su distribución, pudieran estar ocasionando una disminución en la variación genética y una fuerte estructura genética poblacional. Es por esto que conocer la estructura genética poblacional de la especie y las posibles causas que dan origen a ese acomodo espacial son fundamentales para realizar un mejor manejo de esta. En este sentido, el objetivo de este trabajo es la determinación de patrones espaciales de variación genética en poblaciones de *Cyrtonyx montezumae* mediante el uso de loci microsatelitales de ADN.

I. ANTECEDENTES

I.1. Historia natural de la especie

La codorniz Moctezuma *Cyrtonyx montezumae* (Galliformes: Odontophoridae) también conocida como codorniz arlequín (Figura 1), es un ave terrestre que habita lomeríos con presencia de distintas especies arbóreas, principalmente encino (*Quercus* spp). La existencia de una abundante cobertura de pastizales y arbustos es un factor determinante en la presencia de la especie (Leopold y McCabe, 1957). La especie se distribuye a través de toda la Sierra Madre Occidental desde el sur de Arizona, Nuevo México y Texas en Estados Unidos hasta Oaxaca y el centro de México. En Nuevo México y Texas, la codorniz Moctezuma posee un patrón de distribución fragmentado en parches, separado espacialmente del resto del rango de distribución de la especie (Figura 2).

Es de tamaño mediano, la codorniz Moctezuma mide entre 20 y 23 centímetros de altura. Los machos llegan a pesar hasta 195 g, mientras que las hembras pueden alcanzar un peso de 176 g (Stromberg, 2000). La especie presenta también dimorfismo sexual en el plumaje. Existen cuatro subespecies, *C. m. montezumae*, *C. m. mearnsi*, *C. m. rowleyi* y *C. m. sallei*, las cuales pueden ser diferenciadas principalmente por el patrón en el plumaje de los machos (Leopold y McCabe, 1957).

La subespecie más norteña *Cyrtonyx montezumae mearnsi* habita los estados de Sonora, Chihuahua, Durango, Coahuila y Nuevo León en México; en Estados Unidos se encuentra en los estados de Arizona, Nuevo México y Texas (Stromberg, 2000). Los machos de esta subespecie poseen plumas blancas y negras en la cara que forman un llamativo patrón similar a la cara de un arlequín. Los flancos del cuerpo son de color gris cubiertos por puntos blancos, la parte dorsal es de un color canela con puntos negros, el medio de la parte ventral desde el pecho hasta la cola es de color café y poseen un pico de color grisáceo. Las hembras presentan un vago patrón de arlequín en la cara. Además, las hembras son de un color más pálido y café con un fino patrón de puntos y barras blancas en la parte ventral (Stromberg, 2000).

Figura 1. Hembra (izquierda) y macho (derecha) de *Cyrtonyx montezumae*. Fotografía de Will Brooks (https://ebird.org/view/checklist/S46086344).

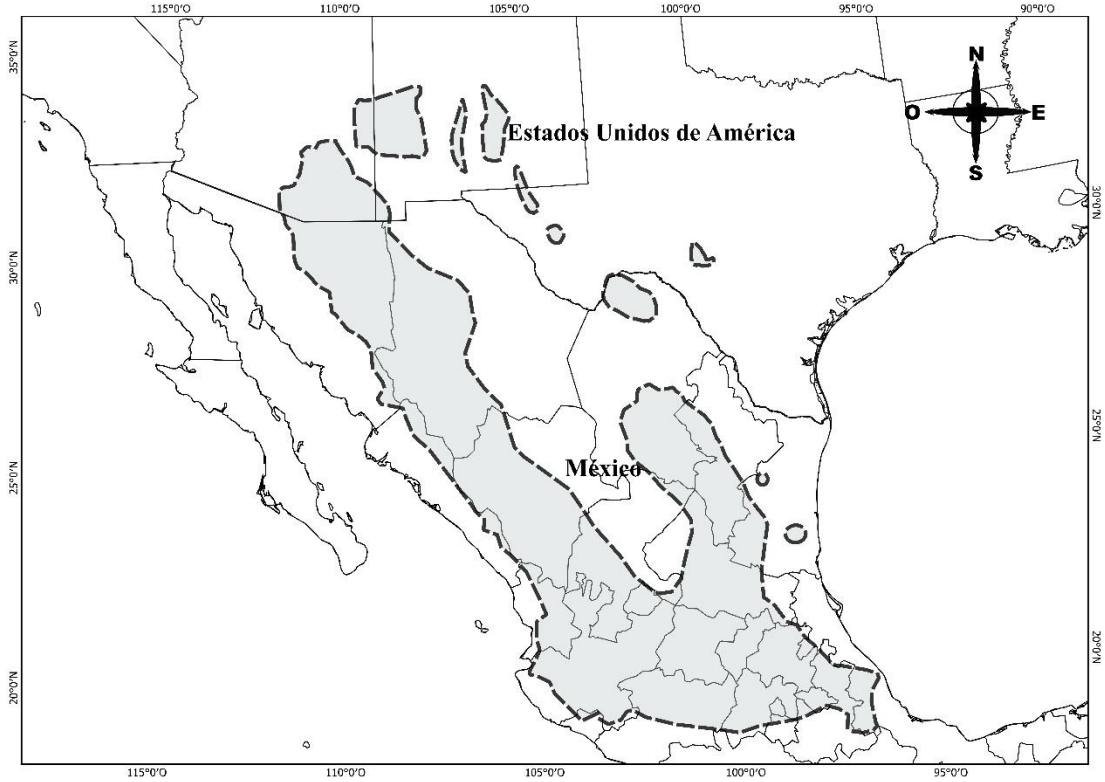


Figura 2. Distribución actual de *Cyrtonyx montezumae* (BirdLife International, 2016).

La formación de parejas reproductoras sucede entre los meses de marzo y abril, mientras que los primeros juveniles por lo general se observan a mediados del mes de julio. Es una especie comúnmente monógama, aunque en algunos años anormalmente húmedos las hembras pueden presentar un comportamiento poligámico y aparearse con varios machos de diferentes nidos, dejando al macho a cargo del cuidado de los huevos (Stromberg, 2000). En promedio cada pareja procrea 11 polluelos por temporada (Leopold y McCabe, 1957; Brown, 1979).

Justo después de la época reproductiva a mediados de septiembre, al igual que otras codornices (Carrol, 1994; Williams *et al.*, 2003), esta especie forma grupos invernales que por lo general están compuestos en promedio por 6.4 a 9.5 individuos (Holdermann, 1992). Estos grupos permanecen unidos hasta los meses de marzo - abril, cuando comienza la época de dispersión de los individuos y la formación de parejas reproductivas (Leopold y McCabe, 1957; Stromberg 1990).

I.2. Ámbito hogareño y movimientos

Existen diversos estudios donde a través del uso de la telemetría se ha estimado el ámbito hogareño y los movimientos de *C. montezumae*. El primero de ellos fue realizado por Stromberg (1990) en el sur de Arizona. En este estudio se encontró que durante la época invernal los grupos permanecieron en áreas de entre 6 y 12 hectáreas (ha) y se movieron una distancia promedio de 97.8 m entre días consecutivos. Al inicio de la época de dispersión, los individuos utilizaron en promedio áreas de 50 ha y se movieron 195 m durante días sucesivos. Al comenzar la época reproductiva las parejas permanecieron en áreas de 2 ha en promedio y sus movimientos diarios tuvieron un promedio de 83 m.

Un estudio realizado por Greene (2011) en el oeste de Texas encontró que el área promedio de ámbito hogareño para la especie en esta región es de 2,149.4 ha. Mientras que la distancia linear máxima entre dos localidades encontrada para un individuo fue de 12.74 km. A pesar de que este estudio solamente obtuvo información durante la época de dispersión y reproducción de la especie, los valores son mayores en comparación con los obtenidos por Stromberg (1990).

Chavarria (2013) instaló radiotransmisores en individuos de *C. montezumae* en tres localidades del sureste de Arizona, encontrando también áreas de ámbito hogareño y movimientos más grandes en comparación con lo reportado por Stromberg (1990). En el trabajo mencionado, el valor máximo de ámbito hogareño de la especie fue de 206.65 ha. Por su parte, la distancia linear máxima promedio entre dos localidades fue de 1,128.39 m, mientras que la distancia linear máxima detectada para un individuo fue de 2375.5 m. Además, este estudio demostró que las hembras adultas tienen áreas de ámbito hogareño más grandes en comparación con los machos. De igual manera, los juveniles de ambos sexos tuvieron áreas de ámbito hogareño mayores en comparación con los adultos.

I.3. Aprovechamiento y manejo de la especie

Cyrtonyx montezumae es aprovechada cinegéticamente durante el invierno en los estados de Arizona y Nuevo México en Estados Unidos (Stromberg, 2000; Heffelfinger y Olding, 2000). En la actualidad la temporada de cacería en Arizona dura 80 días entre noviembre y febrero, mientras que en Nuevo México la temporada comienza el 15 de noviembre y termina el 15 de febrero. En Texas la temporada de cacería se encuentra cerrada, por lo tanto, las poblaciones no se encuentran bajo la presión de la cacería. El uso de perros entrenados para la cacería, el fácil acceso en automóvil a los sitios donde se localizan las parvadas, el incremento en la popularidad de la cacería de la especie en Arizona y Nuevo México, así como el reducido rango de dispersión de las parvadas durante la temporada invernal permite a los cazadores localizarlas con relativa facilidad. Por lo tanto, durante una misma temporada invernal se puede llegar a eliminar a todos los individuos de una misma parvada (Stromberg, 2000). La cosecha de parvadas enteras puede estar promoviendo un descenso en el tamaño poblacional de la especie

La disminución de la abundancia de esta especie también puede estar dada por la pérdida de una buena cobertura de pastizales (Harveson, 2009). Una de las estrategias de defensa de esta especie es permanecer inmóvil en el suelo cuando se siente amenazada, de esta manera logra camuflarse con el suelo gracias a los patrones crípticos de su plumaje. Sin embargo, la reducción en la cobertura de los pastizales debido al sobrepastoreo le quita a la especie su principal estrategia de defensa contra los depredadores (Heffelfinger y Olding, 2000). De igual modo, la

reducción en la cobertura vegetal también puede estar dada por el decremento de las precipitaciones durante el verano.

Como se mencionó anteriormente, en Texas no está permitida la cacería de la especie, debido principalmente a los bajos valores de abundancia que presenta en el estado. En el estado las poblaciones remanentes de *C. montezumae* se encuentra restringidas a la región de Trans-Pecos en el oeste y a la Meseta de Edwards en el centro (Albers y Gehlbach, 1990). A raíz de esto, se han realizado distintos esfuerzos para reestablecer las poblaciones de *C. montezumae* en el estado. A mediados de la década de 1970 se inició con una serie de reintroducciones en distintas regiones de Texas a partir de individuos colectados en Arizona, donde la especie es más abundante (Wauer, 1973). A pesar de que la liberación de los individuos en las distintas ocasiones fue realizada en sitios donde históricamente se distribuía la especie, el éxito de estas reintroducciones no se ha podido confirmar (Armstrong, 2007) debido a que no se les dio el seguimiento adecuado a los individuos liberados. De esta forma, no se tiene la certeza si los individuos observados en años posteriores a las reintroducciones son migrantes de regiones cercanas o si se trata de los individuos reintroducidos (Armstrong, 2007).

I.4. Variabilidad genética en las codornices del nuevo mundo

El conocimiento de los patrones de variabilidad genética ha sido impulsado principalmente por el desarrollo de los marcadores moleculares. Particularmente, los marcadores microsatelitales se han convertido en una herramienta muy utilizada para determinar la estructura genética de las poblaciones (Golubov y Ortega, 2007). Esto se debe a que los loci microsatelitales son marcadores codominantes altamente polimórficos y se encuentran ampliamente distribuidos en el genoma de muchos organismos eucariontes, por lo tanto, son capaces de brindar gran cantidad de información y nos permiten diferenciar unos individuos de otros a partir de muestras de tejido (Kashi y Soller, 1998). Se han desarrollado marcadores microsatelitales para diversas especies de la familia Odontophoridae como *Callipepla squamata* (Orange *et al*., 2014), *Callipepla californica* y *Callipepla gambelli* (Gee *et al*., 2003), *Colinus virginianus* (Schable *et al*., 2004) y para *Odontophorus leucolaemus* (Hale y Hughes, 2003). Los trabajos realizados con estos marcadores moleculares se han enfocado en determinar la variabilidad genética y el parentesco familiar.

La mayoría de los estudios para determinar la variabilidad genética han sido enfocados en las poblaciones de *Colinus virginianus*. Esta especie posee una amplia distribución, sin embargo, la fragmentación del hábitat donde ocurre ha ocasionado el descenso de las poblaciones. A pesar de la reducción poblacional, diversos autores han encontrado que esta especie presenta una débil estructura poblacional y diversidad genética similar entre poblaciones (Williford *et al*., 2017).

Tres estudios realizados en distintos lugares de Estados Unidos encontraron que a pesar del aparente aislamiento que presentan algunas poblaciones de *C. virginianus*, los estimadores de variabilidad genética presentan altos valores y la estructura genética entre las poblaciones analizadas es prácticamente nula (Terhune, 2008; Evans *et al*., 2012; Miller *et al.*, 2017). Los autores atribuyen estos patrones a dos factores. El primero de ellos es que probablemente los individuos de esta especie aún se encuentran migrando entre poblaciones a pesar de la fragmentación del hábitat y, esto es debido principalmente a que una gran proporción del área que separa a las poblaciones está ocupada por tierras agrícolas, lo que de alguna manera permite la movilidad de las aves a través de estas zonas. El segundo factor es atribuido al hecho de que el tiempo que ha transcurrido desde que la fragmentación del hábitat comenzó a incrementarse ha sido poco, por lo tanto, es muy corto el tiempo para que exista un reflejo de este fenómeno en la variabilidad genética.

En el caso de *C. montezumae*, no se han desarrollado marcadores microsatelitales para la especie. Sin embargo, Mathur y colaboradores (2019) realizaron un estudio con polimorfismo de nucleótido único (SNP por sus siglas en inglés). En el análisis incluyeron individuos de las poblaciones de Arizona, Nuevo México y oeste de Texas. Los autores reportan una heterocigosidad observada de 0.32 ± 0.17, mientras que el índice de diferenciación genética entre pares de poblaciones osciló entre 0.08 y 0.14. Según el análisis de variabilidad genética que realizaron, la población de Texas se encuentra separada de las poblaciones de Arizona y Nuevo México.

II. HIPÓTESIS

Dado que la especie ocupa bosques de encino que se encuentran ampliamente separados unos de otros por áreas desérticas, aunado a la limitada capacidad de vuelo de esta gallinácea, es probable que el intercambio de individuos entre las poblaciones sea limitado, lo que genera bajos niveles de variabilidad genética al interior de las metapoblaciones y una estructura poblacional que sigue un patrón de aislamiento por distancia.

III. OBJETIVOS

III.1. Objetivo general

Determinar la estructura y patrones de variación genética en poblaciones de *Cyrtonyx montezumae* en el límite norte de su distribución.

III.2. Objetivos específicos

1. Comparar la variabilidad genética microsatelital entre las poblaciones de *Cyrtonyx montezumae* de Arizona, Nuevo México y Texas.
2. Determinar la estructura genética en poblaciones de *Cyrtonyx montezumae* en los estados de Arizona, Nuevo México y Texas.
3. Determinar si existe un patrón de aislamiento por distancia en poblaciones de *Cyrtonyx montezumae* en Arizona, Nuevo México y Texas.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

IV.1. Colecta de muestras

Las muestras utilizadas en este trabajo son provenientes de la cacería legal en Nuevo México, Arizona y Texas en Estados Unidos (Figura 3)(Anexo 1). Dichas muestras están compuestas por las alas y los buches de individuos cazados durante el invierno entre los años 2009 a 2019. Con el fin de asignarles una población a los individuos se diseñó un arreglo espacial con cuatro poblaciones: Arizona (AZ), Nuevo México Este (NME), Nuevo México Oeste (NMW) y Texas Oeste (TXW). En total se obtuvieron 119 muestras, 32 de AZ, 36 de NMW, 26 de NME y 25 de TXW (Tabla 1). Esto de acuerdo con la ubicación de los individuos cosechados y al rango de distribución actual de la especie propuesto por la IUCN (BirdLife International, 2016).

IV.2. Genotipeado de microsatélites

IV.2.1. Extracción de ADN y PCR

Para realizar la extracción de ADN se tomaron 25 mg de tejido muscular del ala derecha de cada individuo. Se utilizó el kit de extracción DNeasy Blood and Tissue de QIAGEN® y el extracto de ADN obtenido se almacenó a -20°C. Es importante señalar que debido a la deshidratación y deterioro que presentaban buena parte de las muestras fue necesario realizar la homogeneización del tejido mediante un mortero, esto para tratar de obtener mayores concentraciones de ADN. La concentración de ADN en el extracto fue evaluada con un espectrofotómetro Nano Drop 1000.

Se probaron 20 loci microsatelitales desarrollados por Schable y colaboradores (2004) para *Colinus virginianus*. La elección de estos 20 loci se realizó con base en la heterocigosidad y el número de alelos reportados por los autores. Para la amplificación de los microsatélites, se prepararon reacciones de PCR de 25 µL cuyas concentraciones finales fueron: 2 µL de ADN

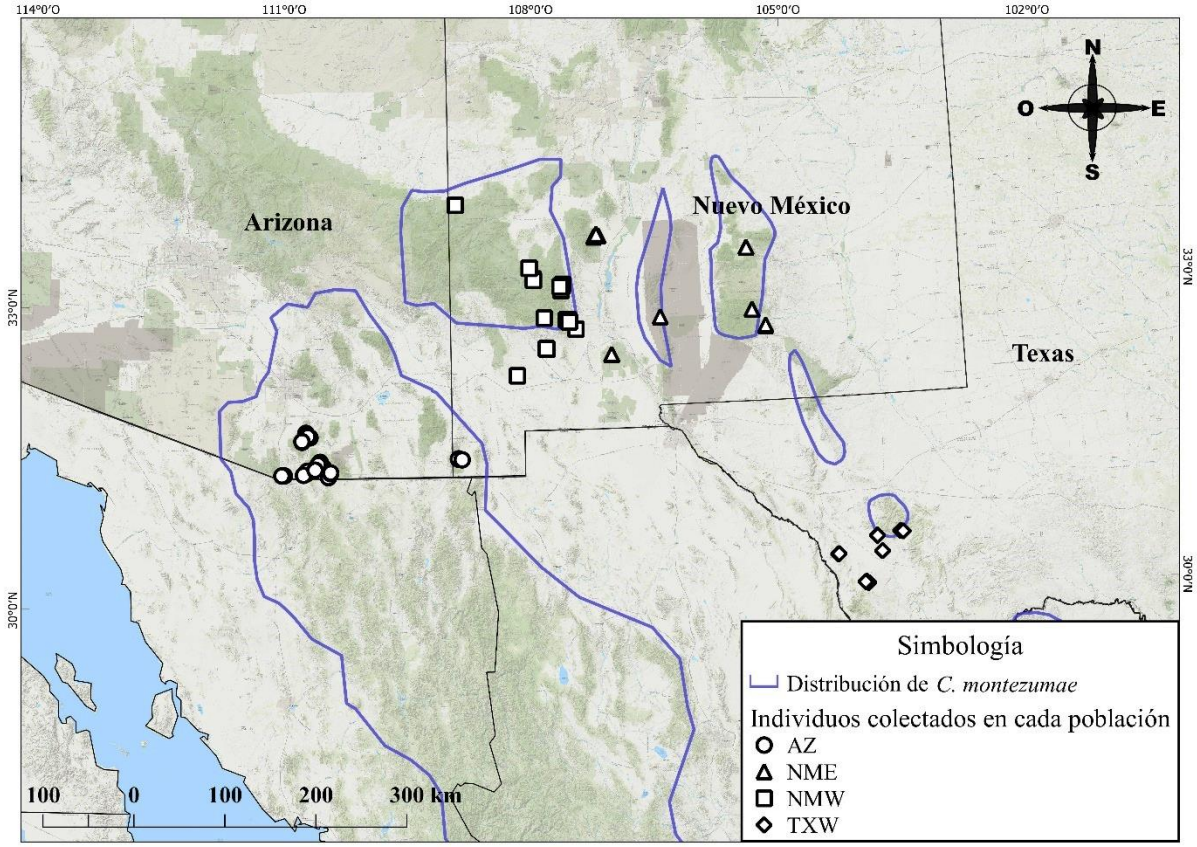


Figura 3. Ubicación de los sitios donde fueron cazados los individuos de *Cyrtonyx montezumae* utilizados en este trabajo (BirdLife International, 2016).

Tabla 1. Localidad, cantidad y año de colecta de los individuos de *C. montezumae* utilizados en este trabajo.

Localidad	Tamaño de muestra	Año de colecta
Arizona (AZ)	32	2015-2017
Nuevo México Este (NME)	26	2010, 2015-2016
Nuevo México Oeste (NMW)	36	2009-2011, 2015-2016
Texas Oeste (TXW)	25	2018-2019
Total	119	-

genómico (con una concentración de 50 ng por µL), 12.5 µL de MasterMix (GoTaq® Colorless Master Mix, Promega), 1 µL de cada oligo y 8.5 µL de agua para PCR sin endonucleasas. Las condiciones del termociclador para la amplificación se modificaron de acuerdo con las especificaciones del fabricante del MasterMix utilizado y a las temperaturas de alineación de los oligos. El programa utilizado fue el siguiente: un ciclo de 95°C por 2 minutos; cinco ciclos de 94°C por 30 segundos, 45°C por 30 segundos y 72°C por 30 segundos; después 35 ciclos de 94°C por 45 segundos, 45°C por 45 segundos y 72°C por un minuto; seguido de un ciclo de 72°C por dos minutos. Los productos de PCR fueron cargados en geles de agarosa teñidos con bromuro de etidio al 2% y corridos por electroforesis a 90 volts durante 55 minutos. Posteriormente fueron visualizados en el fotodocumentador DNR BIO-Imaging Systems MiniBIS Pro® para corroborar la amplificación de los fragmentos deseados.

Se seleccionaron los 12 microsatélites que presentaron mayor polimorfismo y concordancia en el tamaño de los fragmentos según lo reportado por el autor (Tabla 1). Debido a que los oligos poseían distintas temperaturas de alineación, se realizaron pruebas de estandarización de la técnica de PCR mediante un gradiente para determinar la temperatura óptima para cada par de oligos, las temperaturas variaron entre 45°C y 57°C (Tabla 2). Posteriormente se ordenó este set de oligos a SIGMA-ALDRICH con una modificación en la secuencia 5'- 3' (marcaje), donde fueron adheridos a la secuencia los fluoróforos FAM y HEX. A pesar de haber realizado pruebas con todos los primers previo al marcaje con fluoróforos, se tuvieron problemas con la amplificación de los loci Quail 32 y Quail 34 utilizando oligos marcados (Tabla 2).

Después de estar seguros de haber obtenido la amplificación de los fragmentos deseados en 10 loci, se realizaron diluciones de los productos de PCR a 50 ng/µl en un volumen de 50 µl siguiendo las indicaciones de MACROGEN. Se colocaron 15 µl de cada dilución en placas de 96 pozos utilizando un arreglo multiplex Post-PCR (Tabla 3) y fueron enviadas a MACROGEN donde se realizó la lectura de fragmentos en un secuenciador ABI 3730xl (Applied Byosistems).

Tabla 2. Loci microsatelitales seleccionados de acuerdo con la concordancia en el tamaño de los fragmentos según lo reportado por Schable *et al* (2004). Los loci marcados en negritas son aquellos en los que se presentaron problemas en la amplificación utilizando los oligos marcados con fluoróforos. T (°C) = temperatura de alineamiento.

Locus	Secuencia del oligo 5'-3'	Repetición	Rango de tamaño esperado (pb)	T (°C)	Fluoróforo
Quail 3	F: GTG ATA CCC TCT GCT AGA C R: CCA GCA ATA CAA GAG TTT A	$(AC)_{13}$	110-136	53	FAM
Quail 9	F: TGG CTG AAC TGA TGT ATT A R: CCT GGA GTA TTA GCA CAC A	$(AC)_{23}$	283-311	53	HEX
Quail 13	F: AAA CAG TTC AAG TCT TCA AAT A R: GCA GTC TTC GCT TGA TAC	$(AC)_{35}$	116-170	53	FAM
Quail 14	F: GCA TTT GCG TTT AAG TAA G R: CCA AGC TCA GTG TCT AAG A	$(AAAC)_{6}$	232-244	53	HEX
Quail 24	F: AAA TGT GTT GAA GGA AGT AT R: CTG TTT GCC TCC AGT C	$(AAAC)_{6}$	148-164	57	FAM
Quail 25	F: AGG TAT TCT ATC AAG ATT CTA TC R: GTT TTT GTT ACG CAG TTT	$(AAAC)_{5}$	146-150	49	HEX
Quail 27	F: TAG TCA GTG AAG CAA TAA G R: CCA GAA TTT CGA TAC AC	$(AAAC)_{5}$	170-244	45	FAM
Quail 31	F: GTG CTTGAG AAA TGA GTT A R: GCA GGC AAA ATC TAA AC	$(AC)_{13}$	152-170	53	HEX
Quail 32	F: AAG ATA TGC AGG TTA GAT TA R: TTC CCA CCA TGT TAT CTA	$\mathbf{(AAAC)_{6}}$	182-204	-	-
Quail 34	F: TTG GTC AGG AAT CAC ATA R: GCA GGA GAC AGA CTA TGA	$\mathbf{(ACAG)_{5}(AC)_{7}}$	283-311	-	-
Quail 41	F: ACT TGT TTT ACT TCT GGA ATA R: AAA TGT TTC TGG GAT CTT	$(AAAC)_{6}$	290-336	49	FAM
Quail 44	F: TCC ACA GCA GGT CAG TA R: CCC TCT CCA CTT GGT ATA	$(AAAC)_{6}$	192-208	53	HEX

Tabla 3. Arreglo multiplex utilizado para enviar los productos de PCR al análisis de fragmentos a MACROGEN. *: La placa MQ5 incluyó a los 10 loci microsatelitales para todos los individuos de la población de Texas.

Placa	Locus
MQ1	Quail 3 y Quail 31
MQ2	Quail 13 y Quail 14
MQ3	Quail 24, Quail 41 y Quail 44
MQ4	Quail 9, Quail 25 y Quail 27
MQ5*	Todos los loci

IV.2.2. Lectura de fragmentos

La lectura de alelos se realizó mediante el programa GeneMarker v 2.6.4 (Hulce *et al.*, 2011). A partir de esto se creó una matriz de alelos en el programa Microsoft Excel® que sirvió como base para los análisis posteriores. Debido a que se utilizaron diferentes programas para los análisis, fue necesario transformar la matriz de alelos a los distintos formatos que requiere cada uno de ellos, esto se realizó con el programa CREATE v 1.37 (Coombs *et al.*, 2008).

IV.3. Análisis estadístico

IV.3.1. Variabilidad genética

Se evaluó la pérdida de alelos, alelos nulos y el exceso de homocigotos mediante el programa Micro-Checker v 2.2.3 (Van Oosterhout *et al.*, 2004). Utilizando el complemento GenAlEx v 6.5 (Smouse y Peakall, 2012) en el programa Microsoft Excel®, se obtuvieron los estimadores de variabilidad genética: alelos por locus (*A*), heterocigosidad esperada (H_e) y heterocigosidad observada (H_o) para cada locus y población. Por medio del software ARLEQUIN v 3.5 (Excoffier y Lischer, 2010) se calcularon las posibles desviaciones del supuesto de equilibrio de Hardey-Weinberg (HWE por sus siglas en inglés) para cada locus en cada población. Se aplicó la corrección de Bonferroni sobre los resultados de este último análisis.

IV.3.2. Estructura y diferenciación genética poblacional

Para determinar el grado de diferenciación genética entre las poblaciones se calculó el índice de diferenciación genética poblacional R_{ST} con el programa ARLEQUIN v 3.5 (Excoffier y Lischer, 2010). Este índice fue desarrollado por Slatkin (1995) para estudios de variación genética que utilizan microsatélites. Es análogo del índice F_{ST} desarrollado por Wright (1951), el cual calcula la diferenciación genética entre dos o más poblaciones a partir de las diferencias en las frecuencias alélicas. A diferencia del $F_{ST,}$ el R_{ST} estima la diferenciación genética entre dos poblaciones a partir de la variación en el tamaño de los alelos para cada locus entre ambas poblaciones. Los valores de este índice van del 0 al 1, donde el valor 0 indica nula diferenciación genética entre dos poblaciones y el 1 completa diferenciación entre poblaciones.

Se realizó un análisis de estructura poblacional mediante el software STRUCTURE (Excoffier y Lischer, 2010) el cual realiza una estimación del número más probable de clusters o grupos que existen dentro de la población analizada. Dicha estimación se basa en la asignación bayesiana de los individuos a partir de las frecuencias genotípicas presentes en la población. Los parámetros establecidos para realizar el análisis fueron 10,000 burnins, 50,000 repeticiones de cadenas de Markov-Monte Carlo, 25 iteraciones, un valor de *K* (número de clusters) de entre 1-4, un modelo ancestral de mezcla y un modelo de frecuencias alélicas correlacionadas. Ambos modelos asumen que los individuos tienen un origen mixto y que las frecuencias alélicas en las poblaciones son similares. Los resultados obtenidos fueron analizados mediante el método de Evanno y colaborades (2005) en el software STRUCTURE HARVESTER (Earl, 2012) para determinar el número más probable de clusters en la población. Este método calcula DeltaK (ΔK), el cual está basado en la diferencia entre los valores de la probabilidad logarítmica de los datos entre cada iteración del análisis para los 4 grupos.

Se realizó un análisis de varianza molecular (AMOVA por sus siglas en inglés) utilizando el software ARLEQUIN v 3.5 (Excoffier y Lischer, 2010) para determinar si la mayor parte de la variabilidad genética se presenta dentro o entre las agrupaciones de poblaciones. A partir de los resultados obtenidos en el programa STRUCTURE se realizó un AMOVA jerárquico, agrupando a las poblaciones de acuerdo con el número de grupos más probable y al nivel de diferenciación genética entre ellas obtenido mediante el índice R_{ST}.

IV.3.2 Aislamiento por distancia

Para determinar si existe un patrón de aislamiento por distancia entre las poblaciones de *C. montezumae*, se realizó una prueba de Mantel en el programa ISOLDE el cual se encuentra incorporado en el programa GENEPOP v 4.3 (Rousset, 2014). La prueba de Mantel (1967) realiza una estimación de la correlación existente entre matrices de distancia, en este caso distancia geográfica en kilómetros y distancia genética entre pares de poblaciones o los valores del estadístico R_{ST}. La distancia geográfica se midió en línea recta entre los centros de la ubicación de los individuos colectados en las distintas poblaciones. Se realizaron 10,000 permutaciones para estimar la significancia estadística ($p < 0.05$) de la hipótesis nula de independencia entre las dos variables. En este caso, la independencia entre las variables es sinónimo de que los valores de distancia genética no se ven afectados por la distancia geográfica entre las poblaciones.

V. RESULTADOS

V.1. Genotipeado de microsatélites

Todas las muestras (*n* = 119) fueron analizadas utilizando 10 loci microsatelitales, sin embargo, algunos individuos no mostraron amplificación en los loci Quail 3, Quail 13, Quail 24 y Quail 27 (Tabla 4). Para los primeros tres solo un individuo no amplificó en NME, NMW y AZ respectivamente. Mientras que para el loci Quail 27, tres individuos de NME y dos de NMW no mostraron alelos. En el caso del locus Quail 41, a pesar de haber visualizado la amplificación de los fragmentos en geles de agarosa, solo fue posible genotipear 21 individuos del total, ya que el resto no presentaba lecturas de fragmentos, por lo tanto, se decidió excluir este locus de los análisis. La falta de resultados para este locus pudo haber sido causada por la degradación del ADN contenido en la reacción de PCR o por un error de lectura en el equipo de secuenciación.

V.2. Variabilidad genética

Únicamente se detectó la presencia de alelos nulos en los loci Quail 27 y Quail 44, por lo que estos fueron excluidos de los análisis de diferenciación y estructura genética para determinar si existía diferencia en los resultados al incluir estos loci. Siete loci resultaron polimórficos en al menos una población, mientras que los loci Quail 25 y Quail 44 resultaron monomórficos para todas las poblaciones (Tabla 4). Se encontraron alelos exclusivos en las poblaciones de AZ, NME y TXW para los loci Quail 03, Quail 13, Quail 27 y Quail 31.

El locus Quail 27 presentó desviación del supuesto de HWE en las poblaciones de AZ, NME y NMW, en los tres casos se presentó un déficit de heterocigotos. Por su parte, el locus Quail 31 resultó fuera del supuesto de HWE en todas las poblaciones, presentando exceso de heterocigotos en AZ y déficit en las otras 3 poblaciones. El locus Quail 24 estuvo fuera del supuesto de HWE en la población de NMW, donde gran parte de los individuos presentaron el mismo genotipo homocigoto (Tabla 4).

Tabla 4. Estimadores de variabilidad genética para cada locus microsatelital en las poblaciones de *C. montezumae* en Arizona, Nuevo México Este, Nuevo México Oeste y Texas Oeste. N, *A*, H_o y H_e representan tamaño de muestra, número de alelos (alelos exclusivos), heterocigosidad observada y heterocigosidad esperada, respectivamente. Los números marcados en negritas corresponden a aquellos loci que se encontraron fuera del supuesto de equilibrio de Hardy-Weinberg, bajo la prueba exacta de Fisher ($p < 0.05$). Estos datos fueron sometidos a la corrección de Bonferroni.

	Arizona				Nuevo México Este				Nuevo México Oeste				Texas Oeste			
Locus	N	*A*	H_o	H_e	N	*A*	H_o	H_e	N	*A*	H_o	H_e	N	*A*	H_o	H_e
Quail 03	32	2	0.16	0.20	25	3 (1)	0.20	0.18	36	3	0.22	0.20	25	2	0.12	0.11
Quail 09	32	1	0.00	0.00	26	2	0.12	0.11	36	2	0.17	0.15	25	1	0.00	0.00
Quail 13	32	1	0.00	0.00	26	1	0.00	0.00	35	1	0.00	0.00	25	2(1)	0.04	0.04
Quail 14	32	2	0.41	0.32	26	2	0.58	0.49	36	2	0.47	0.49	25	2	0.56	0.50
Quail 24	31	3	0.42	0.34	26	3	0.39	0.37	**36**	**2**	**0.03**	**0.08**	25	3	0.36	0.30
Quail 25	32	1	0.00	0.00	26	1	0.00	0.00	36	1	0.00	0.00	25	1	0.00	0.00
Quail 27	**32**	**3**	**0.19**	**0.44**	**24**	**4(2)**	**0.25**	**0.59**	**33**	**2**	**0.21**	**0.50**	25	4(1)	0.52	0.62
Quail 31	**32**	**5(1)**	**0.84**	**0.62**	**26**	**7(1)**	**0.62**	**0.75**	**36**	**6**	**0.58**	**0.68**	**25**	**7(3)**	**0.48**	**0.69**
Quail 44	32	1	0.00	0.00	26	1	0.00	0.00	36	1	0.00	0.00	25	1	0.00	0.00
Media	31.89	2.22	0.22	0.22	25.67	2.67	0.24	0.28	35.56	2.22	0.19	0.23	25.00	2.56	0.23	0.25
Error estandar	0.11	0.43	0.10	0.08	0.24	0.65	0.08	0.09	0.34	0.52	0.07	0.09	0.00	0.65	0.08	0.10

En general, la mayoría de los loci resultaron completamente polimórficos demostrando un mayor valor en la heterocigosidad observada respecto a la esperada. Los valores de variabilidad genética, número de alelos por locus y heterocigosidad observada se mantuvieron similares entre todas las poblaciones. NME fue la población que presentó los valores más altos de heterocigosidad (0.24 ± 0.08), seguida de TXW (0.23 ± 0.08), y AZ (0.22 ± 0.10), mientras que la población NMW presentó los valores más bajos (0.19 ± 0.07). A nivel global los estimadores de variabilidad genética tuvieron los siguientes valores, el número de alelos osciló de 1 a 11 con una media de 2.41 ± 0.27 por locus, con una heterocigosidad observada global de 0.22 ± 0.04 y una heterocigosidad esperada de 0.24 ± 0.04.

V.3. Estructura y diferenciación genética poblacional

A partir de la poca diferencia existente entre los resultados de los análisis con o sin loci con alelos nulos, se determinó realizar el análisis con la información de todos los loci. El índice de diferenciación genética poblacional R_{ST} global tuvo un valor de 0.045. Los valores de diferenciación entre poblaciones fueron bajos (Tabla 5). Sin embargo, la diferenciación existente entre las poblaciones de AZ - TXW (R_{ST} = 0.094; p = 0.001) y AZ - NME (R_{ST} = 0.043; p = 0.011) resultó estadísticamente significativa. De igual manera, la diferenciación existente entre TXW y NMW tuvo significancia estadística (R_{ST} = 0.059; p = 0.013).

Según las probabilidades obtenidas del análisis de asignación bayesiana, se determinó el número más probable de grupos mediante el método de Evanno y colaboradores (2005), arrojando como resultado la distribución de los individuos en 3 grupos (K=3) (Figura 4). A pesar de esto, la asignación proporcional que se le da a cada individuo parece demostrar mezcla entre los individuos de los tres grupos (Figura 5). La proporción de individuos de cada población asignados a los distintos grupos reúne a las dos poblaciones de Nuevo México en un solo grupo, mientras que las poblaciones de Arizona y Texas Oeste son ubicadas en dos grupos separados (Figura 6).

Se realizó un AMOVA agrupando a las poblaciones de acuerdo con el número de grupos estimado por STRUCTURE. Se encontró que la mayor parte de la variación genética existente

entre las poblaciones norteñas de *C. montezumae* se da al interior de cada población con el 94.58%, mientras que la variación entres las poblaciones y entre grupos representan el 2.96% y 2.44%, respectivamente (Tabla 6). Este resultado concuerda con el índice R_{ST}, indicando una débil estructura genética entre las poblaciones.

Tabla 5. Valores del índice de diferenciación genética R_{ST} (debajo de la diagonal) entre las poblaciones de *C. montezumae* en Arizona (AZ), Nuevo México Este (NME), Nuevo México Oeste (NMW) y Texas Oeste (TXW). Los números por encima de la diagonal son los valores de *p* para cada par de poblaciones obtenidos con prueba exacta de Fisher. Los valores del índice que resultaron estadísticamente significativos están en negritas.

	AZ	NME	NMW	TXW
AZ	-	**0.011**	0.059	**0.001**
NME	**0.043***	-	0.176	0.096
NMW	0.014	0.010	-	**0.013**
TXW	**0.094****	0.033	**0.059***	-

*: significativo, **: altamente significativo

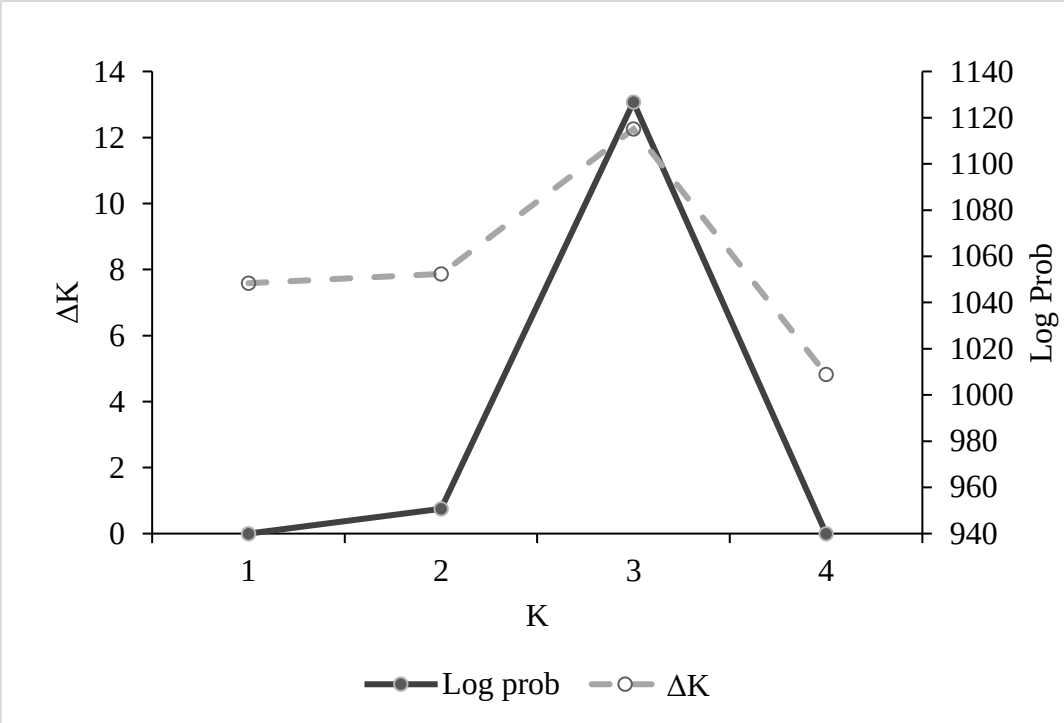


Figura 4. EL número de grupos más probable a partir de las probabilidades de asignación bayesiana obtenidas en STRUCTURE fue de K=3. ΔK índica los valores de Delta K, mientras que Log prob indica la probabilidad logarítmica de los datos entre cada iteración.

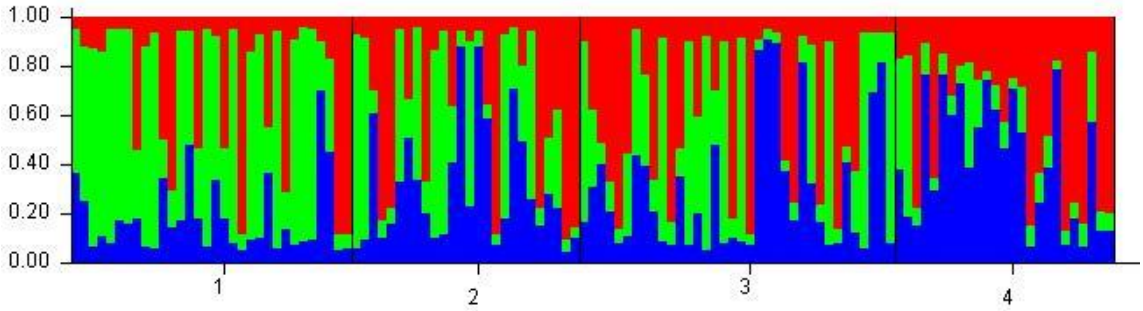


Figura 5. Asignación bayesiana para cada individuo de *C. montezumae* obtenida mediante STRUCTURE. Cada barra representa a un individuo. Las poblaciones están ordenadas de la siguiente manera: 1) Arizona, 2) Nuevo México Este, 3) Nuevo México Oeste y 4) Texas Oeste.

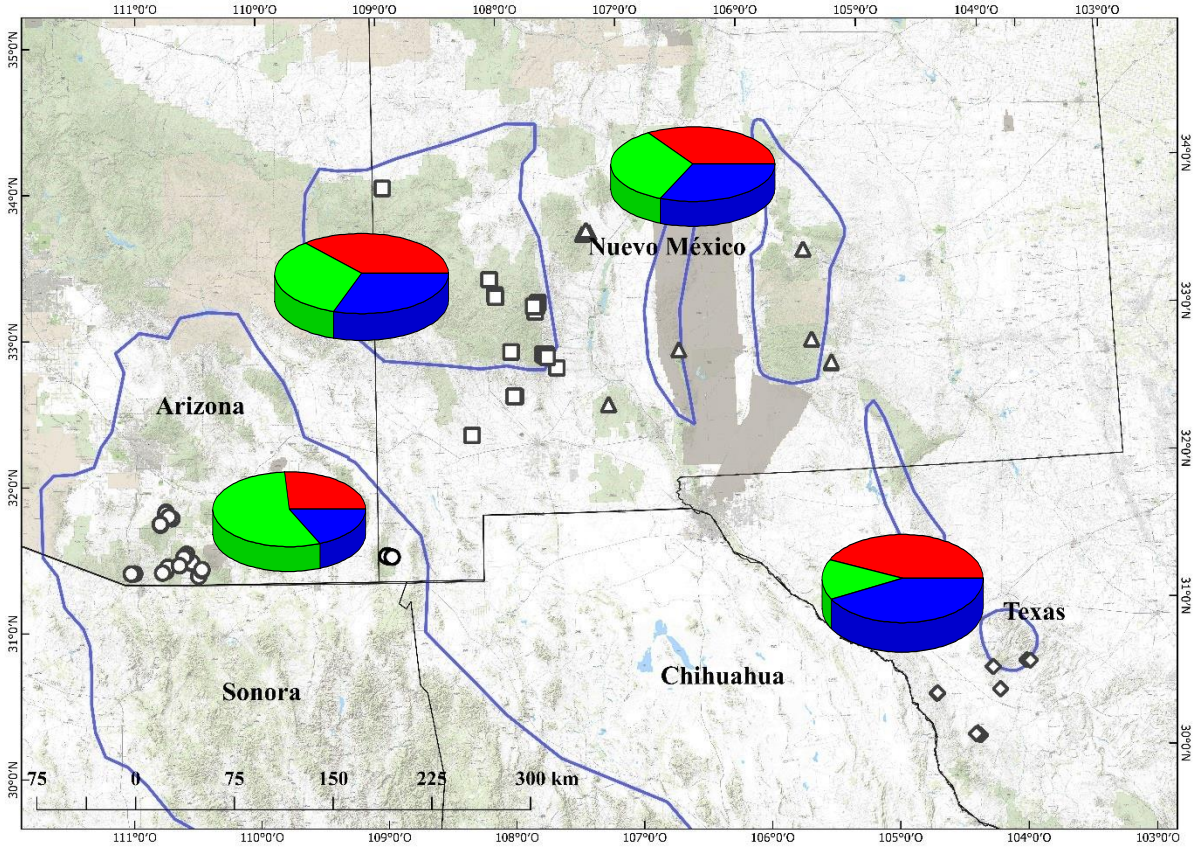


Figura 6. Las localidades donde fueron cazados los individuos de *C. montezumae* (2009 y 2019) utilizados en este trabajo. Las gráficas de pastel indican la proporción de individuos de cada población asignados mediante el programa STRUCTURE. Círculos = AZ, cuadrados = NMW, triángulos = NME y rombos = TXW.

Tabla 6. Análisis de varianza molecular (AMOVA) para las poblaciones de Arizona, Nuevo México y Texas de *C. montezumae*. gl=grados de libertad.

Fuente de variación	gl	Suma de cuadrados	Varianza	Porcentaje de variación	F_{ST}	*p*
Entre grupos	2	12.965	0.059	4.957%	0.066	0.11
Dentro de los grupos	1	2.306	0.019	1.647%		
Dentro de las poblaciones	234	257.375	1.113	93.395%		

V.4. Aislamiento por distancia

La prueba de Mantel mediante la cual se realizó el análisis de aislamiento por distancia en el programa ISOLDE, encontró que existe una fuerte correlación ($R^2 = 0.84$) entre la distancia geográfica y la distancia genética (R_{ST}) en las poblaciones de *C. montezumae* analizadas (Figura 7). Existe evidencia sugestiva ($p = 0.08$) de no independencia entre la distancia geográfica y la distancia genética. En concordancia con el estadístico R_{ST}, las poblaciones de AZ-TXW fueron las que presentaron el mayor valor de distancia genética y distancia geográfica. Mientras que las poblaciones de NME-NMW presentaron una menor distancia genética y geográficamente.

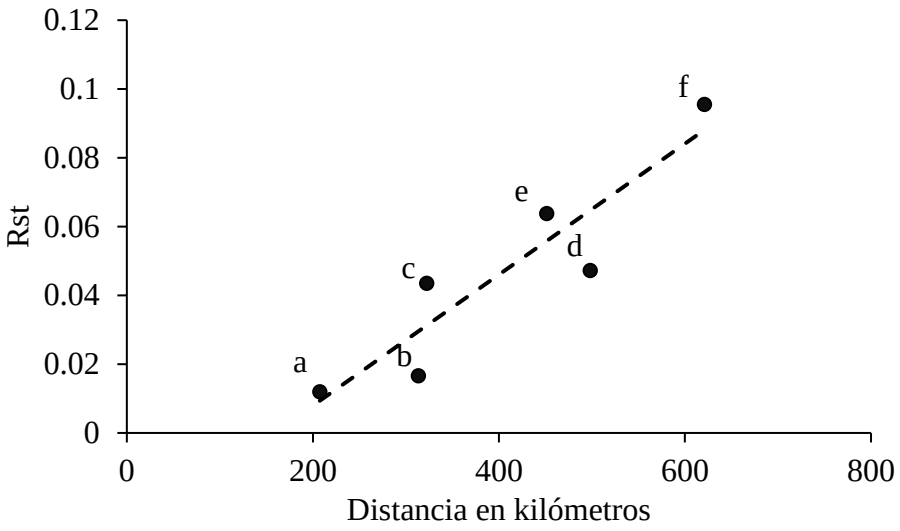


Figura 7. Correlación entre la distancia geográfica y los valores del estadístico R_{ST} para cada par de poblaciones. La línea de tendencia indica una correlación positiva, sin embargo, según la prueba de Mantel realizada, esta no fue significativa estadísticamente ($R^2 = 0.84$; $p = 0.08$). Las letras sobre el gráfico indican cada par de poblaciones. a = NME-NMW, b = AZ-NMW, c = NME-TXW, d = AZ-NME, e = NMW-TXW, f = AZ-TXW.

VI. DISCUSIÓN

Los microsatélites utilizados en este trabajo fueron diseñados para *Colinus virginianus*. Los problemas en la amplificación de algunos loci microsatelitales propuestos para el análisis de variabilidad genética, muy probablemente se deban a que estos fueron diseñados para otra especie. Existe evidencia de que entre mayor sea la distancia genética entre la especie para la que fueron diseñados los microsatélites (especie de origen) y la especie donde se busca amplificar estos (especie objetivo) hay menor probabilidad de que la amplificación cruzada sea exitosa (Primmer *et al.,* 1996; Hendrix *et al.,* 2010). Por lo tanto, a mayor distancia genética hay mayor probabilidad de que existan mutaciones en las secuencias flanqueantes de la región microsatelital, impidiendo su amplificación. Hosner y colaboradores (2015) reportan que *Cyrtonyx montezumae* y *Colinus virginiannus* se encuentran en dos clados distintos dentro de la familia Odontophoridae, divergiendo hace aproximadamente 15 millones de años, lo que nos dice que la distancia genética entre ellas es considerable.

La distancia genética entre *C. montezumae* y *C. virginiannus* también tiene influencia en los niveles de polimorfismo que se presentan en la especie objetivo (Galbusera *et al.,* 2000). Además, se ha encontrado que entre mayor sea la cantidad de repeticiones del motivo microsatelital, mayor probabilidad de obtener valores más altos de polimorfismo (Neff y Gross, 2001). Primmer y colaboradores (2005) realizaron un estudio sobre la amplificación cruzada de loci microsatelitales en aves y demostraron que los loci que presentaban menos de 10 repeticiones tenían una probabilidad más baja de resultar polimórficos en la especie objetivo. Esto concuerda con lo encontrado en este trabajo, ya que los dos loci que resultaron monomórficos en todas las poblaciones tienen menos de 10 repeticiones del motivo microsatelital. Es por esto, que los resultados de este trabajo deben ser tomados con mesura para evitar su inapropiada interpretación.

Se ha reportado que las aves poseen altos niveles de variabilidad genética con valores de heterocigosidad observada cercanos a 0.70 y 9 alelos por locus aproximadamente (Neff y Gross, 2001; Eo *et al.,* 2011). En el caso de las especies de la familia Odontophoridae, los valores de

estos estimadores son parecidos e inclusive más altos que lo reportado por la literatura para las aves en general (Hale y Hughes, 2003; Terhune, 2008; Orange *et al.*, 2014). Si consideramos los valores de heterocigosidad observada y número de alelos por locus obtenidos para la codorniz Moctezuma (H_o = 0.22 ± 0.02; A = 2.41 ± 0.27) podemos decir que existe una baja variabilidad genética en las poblaciones de esta especie en el suroeste de Estados Unidos. Este resultado puede tener dos explicaciones, es posible que la información de los microsatélites es totalmente confiable y *C. montezumae* en realidad sí presenta bajos niveles de variabilidad genética. O bien, la especificidad de los marcadores moleculares utilizados, que como ya se mencionó anteriormente no fueron diseñados para la especie, tiene influencia en los resultados.

Mathur y colaboradores (2019) reportaron bajos niveles de variabilidad genética en la codorniz Moctezuma, donde a pesar de no utilizar los mismos marcadores moleculares, los valores de H_o (0.32 ± 0.17) observados son similares a lo obtenido en este trabajo. La baja variabilidad genética observada en las poblaciones de la codorniz Moctezuma quizá está determinada por la ubicación y el arreglo geográfico que presentan, ya que se encuentran en el límite norte de su distribución y están separadas entre sí por extensas áreas desérticas, las cuales no representan hábitat potencial de distribución para la codorniz. Lesica y Allendorf (1995) mencionan que las poblaciones periféricas de una especie tienen más posibilidades de estar experimentando un proceso de deriva génica, debido al escaso intercambio de individuos que presentan con las poblaciones que se encuentran más cercanas al centro de la distribución geográfica de la especie, ocasionando que algunos alelos puedan fijarse y con esto reducir los valores de variabilidad genética.

En este sentido, se esperaría que la población de Arizona tuviera niveles más altos de variabilidad genética por estar conectada con el resto de la población en México. Sin embargo, a pesar de que los niveles de variabilidad genética son bajos, estos se mantienen similares entre las cuatro poblaciones. También es importante señalar que los cinco loci que resultaron polimórficos para todas las poblaciones tuvieron valores similares a lo reportado para otras aves. Dicho lo anterior, es probable que estos resultados estén influenciados fuertemente por la aparente falta de especificidad de los microsatélites ocasionando bajos niveles de polimorfismo. La inclusión de individuos del resto de la distribución geográfica o el uso de microsatélites

diseñados específicamente para la especie, pudieran ayudar a esclarecer los resultados obtenidos sobre la variabilidad genética observada.

El valor global del estadístico R_{ST} = 0.045, sugiere que hay una débil estructura poblacional. De igual manera, los valores pareados de R_{ST} indican que algunas poblaciones presentan una diferenciación de baja a moderada entre ellas. Este resultado es similar a lo encontrado en las poblaciones de *Colinus virginianus*, pero es importante señalar que a diferencia de *C. montezumae*, esta especie presenta una distribución más amplia y una mayor extensión de hábitat continuo a pesar de que este ha sufrido una fuerte fragmentación en los últimos años, lo que puede ser un indicador de que la especie tiene la capacidad de utilizar las tierras agrícolas como vías de conexión entre las poblaciones (Berkman *et al*., 2013; Williford *et al*., 2014). En cambio, Jensen y colaboradores (2019) encontraron una fuerte estructura genética en *Bonasa umbellus*, una gallinácea que habita en los bosques deciduos de Estados Unidos y Canadá y que presenta una distribución geográfica continua. A pesar de esto, las formaciones montañosas parecen estar actuando como barrera de dispersión en la especie. Estos dos casos explican que la capacidad de dispersión de una especie no solo está determinada por la topografía y diversidad del paisaje.

Nuestros resultados sugieren que la población de AZ es diferente respecto a las poblaciones de NME y TXW y, marginalmente diferente respecto a NMW (R_{ST} = 0.014; p = 0.059), sin embargo, ésta última no resultó significativamente diferente en términos estadísticos, lo que probablemente indique que puede existir intercambio de individuos. El Parque Nacional de Tonto, ubicado en el centro de Arizona, se encuentra conectado mediante cadenas montañosas con el sur del estado, y según las estimaciones representa el límite norte de la distribución geográfica de la codorniz Moctezuma. Sin embargo, reportes de avistamientos de la especie en este parque nacional indican su presencia en esta área (Sullivan *et al.,* 2009). A su vez, esta zona se encuentra unida al Parque Nacional de Apache-Sitgreaves en Arizona y este al Parque Nacional de Gila en Nuevo México, estos parques tienen en común la presencia de hábitat potencial para la especie, por lo que tal vez representen una zona de tránsito para los individuos entre estas dos poblaciones (Apéndice II). Chavarría (2013) mediante un estudio de radiotelemetría realizado en Arizona, encontró que los individuos de *C. montezumae* logran

dispersarse más de 2 kilómetros. A pesar de que la distancia más cercana entre los avistamientos reportados en los dos parques nacionales de Arizona es cercana a los 20 km, no podemos descartar la presencia de la especie en las zonas donde no ha sido reportada, debido a su difícil detección gracias a su estrategia de defensa contra depredadores, que consiste en inmovilizarse para mimetizarse con la hojarasca del suelo utilizando su plumaje críptico.

Por su parte, el valor más bajo para el índice de diferenciación genética ocurrió entre las poblaciones de NMW y NME (R_{ST} = 0.010; p = 0.176). De los individuos colectados, los pertenecientes a estas poblaciones son los que presentan menor distancia geográfica entre ellos, por lo tanto, es probable que el intercambio de individuos entre las dos poblaciones sea mayor en comparación con el resto de las poblaciones. A pesar de que algunos de los individuos de NME parecen estar aislados geográficamente del resto de la población, por ejemplo, los individuos colectados en el Parque Nacional de Lincoln, es posible que la especie esté utilizando las áreas ribereñas como zonas de tránsito entre la población de NMW y NME (Apéndice II). Se ha reportado que *C. montezumae* puede ocurrir en áreas con vegetación ribereña cercanas a bosque de encino (Stromberg, 2000), además, avistamientos de la especie en el Río Grande sustentan esta teoría (Sullivan *et al.,* 2009). Cabe señalar, que un análisis adicional con mayor número de muestras provenientes del Parque Nacional de Lincoln, ayudarían a esclarecer esta teoría.

Los valores del estadístico para la diferenciación entre las poblaciones de AZ y TXW (R_{ST} = 0.094; p = 0.001) y TXW-NMW (R_{ST} = 0.059; p = 0.013) resultaron estadísticamente significativos y fueron los más altos entre las comparaciones realizadas. En cambio, el valor del estadístico R_{ST} entre las poblaciones de TXW - NME (R_{ST} = 0.033; p = 0.096) no resultó estadísticamente significativo, lo cual puede ser un indicador de flujo genético entre estas poblaciones. Greene (2011) reportó movimientos de hasta 12 km para individuos de la codorniz Moctezuma en esta región de Texas, específicamente en las montañas de Davis. Esta zona se encuentra aproximadamente a 20 km de las montañas de Guadalupe, las cuales se ubican entre los límites de Texas y Nuevo México, representando así una posible vía de intercambio entre las dos poblaciones (Apéndice II). Sin embargo, otros aspectos importantes a considerar son la poca abundancia y escasos avistamientos de la especie en la zona descrita, la presencia de áreas

desérticas entre las dos zonas montañosas y el hecho de que el valor de R_{ST} es mayor en comparación con los valores para las poblaciones que tampoco demostraron diferencia entre ellas, por lo que el supuesto de migración entre poblaciones debe ser tomado con mesura.

El análisis de asignación bayesiana demostró que las poblaciones de la codorniz Moctezuma en el suroeste de Estados Unidos se encuentran divididas en tres grupos. El primero está conformado por la población de AZ, el segundo por NMW y NME y el tercero por la población de TXW. Sin embargo, la gráfica de asignación individual obtenida demuestra que existe mezcla entre los tres grupos, siendo más notoria esta mezcla en las poblaciones de Nuevo México. A diferencia de Mathur y colaboradores (2019), quienes encontraron que las poblaciones de estos estados se encontraban divididas en dos grupos (Arizona-Nuevo México y Texas), el esfuerzo global de muestreo realizado en esta tesis es mayor, ya que ellos solo obtuvieron cinco muestras de Nuevo México y 16 de Texas, mientras que para Arizona se obtuvieron 165 por lo que se podría considerar que no existe una representación homogénea de todas las poblaciones, lo que sesgaría los resultados. A pesar de esto, los resultados obtenidos en ambos trabajos son similares, ya que si se toma en cuenta la poca diferenciación existente entre las poblaciones de AZ - NMW y NMW - NME, estas poblaciones estarían actuando como un solo grupo, mientras que la población de TXW se encontraría aislada del resto. En este sentido, es importante señalar que cerca del 40% de la proporción de individuos asignados a la población de TXW provienen del grupo de Nuevo México, lo que nos dice que posiblemente exista la migración entre estos dos grupos, o bien, no ha transcurrido el tiempo suficiente para que se diferencien por completo.

Los valores del índice R_{ST} y el análisis de asignación bayesiana concuerdan en la existencia de una separación genética entre las poblaciones de AZ y TXW. Esto nos indica que las reintroducciones intentadas en TXW no han sido exitosas, al menos no del todo. Diversos factores pudieran ser la causa, uno de los principales podría ser que a diferencia de los individuos de AZ, los individuos de TXW poseen adaptaciones locales que les permiten desarrollarse en determinadas condiciones ambientales, como el clima y la vegetación, que se presentan en la región del Trans - Pecos. En esta región la precipitación media anual (383 milímetros) es menor y la temperatura media anual mayor (24.5°C) en comparación con el sur de Arizona (528 mm,

23.1°C) de donde se han obtenido la mayoría de los individuos para realizar las reintroducciones (USDA Forest Service, 2017). A su vez, la vegetación en el sur de Arizona está dominada por encinos (*Quercus* spp) y pastos nativos como *Bouteloua* spp, *Aristida* spp y *Andropogon* spp, por su parte las especies presentes en la región de Trans-Pecos son propias de los pastizales desérticos con presencia de matorral desértico (USDA Forest Service, 2017), esto podría representar cambios en la composición de la dieta entre los individuos de las dos poblaciones (López-Bujanda, 2019) promoviendo un impedimento para el establecimiento de los individuos reintroducidos. Otro factor en contra del éxito de las reintroducciones es el sobrepastoreo al que están sometidas las áreas de encinos, pastizales y matorrales desérticos en Texas, esto disminuye el acceso al alimento para las codornices y perjudica su principal defensa contra los depredadores al no existir vegetación con la cual mimetizarse (Hernandez *et al.*, 2009).

A partir de las distancias geográficas y el índice de diferenciación genética entre las poblaciones, se observa un claro patrón de aislamiento por distancia en las poblaciones de la codorniz Moctezuma, es decir, las poblaciones más alejadas entre sí presentan mayor diferenciación genética en comparación con aquellas que se encuentran más cercanas. La prueba de Mantel arrojó evidencia sugestiva de no independencia ($p = 0.08$) en concordancia con un valor alto de $R^2 = 0.84$. Este resultado sugiere que la separación entre las poblaciones puede ser suficiente para que se aíslen una de otra. Debido a efectos del cambio en los patrones de temperatura y precipitación, se espera que los límites de los desiertos que rodean al hábitat de la codorniz Moctezuma en el suroeste de Estados Unidos se expandan en altitud y latitud (Archer y Predick, 2008; Seager *et al.*, 2007; Williams *et al.*, 2010). En este contexto, la constante fragmentación y cambios en extensión que están sufriendo los hábitats ocupados por la especie pueden promover una disminución de las posibles zonas de tránsito entre sus poblaciones, ocasionando la separación permanente de estas poblaciones poniendo en riesgo su supervivencia a mediano y largo plazo.

VII. CONCLUSIONES

Este trabajo representa uno de los primeros acercamientos al conocimiento de la variabilidad genética de la codorniz Moctezuma. A pesar de que los microsatélites utilizados no fueron diseñados para la especie, se logró con éxito la amplificación cruzada de nueve loci microsatelitales y en comparación con otras aves, los resultados obtenidos validan que la especie presenta bajos niveles de variabilidad genética al obtener bajos valores de número de alelos por locus y heterocigosidad observada en las cuatro poblaciones analizadas.

A nivel global existe una débil estructura genética entre las cuatro poblaciones. El análisis de asignación bayesiana agrupó a las poblaciones de manera decreciente a Arizona, Nuevo México Oeste - Nuevo México Este y Texas Oeste. El análisis de asignación bayesiana sugirió la mezcla de individuos entre las poblaciones, indicando migración entre ellas, especialmente entre las poblaciones de Nuevo México y Arizona. En este sentido, con los resultados de este trabajo no es posible definir con certeza si las causas que han dado origen a esta mezcla son resultado de eventos antiguos o recientes.

Los resultados indican un patrón de aislamiento por distancia entre las poblaciones al encontrarse evidencia sugestiva de no independencia entre la distancia geográfica y la distancia genética. Sin embargo, es probable que las poblaciones de la codorniz Moctezuma en el suroeste de Estados Unidos no se encuentren aisladas totalmente a pesar de la fragmentación y pérdida de hábitat que enfrenta la especie en esta región.

VIII. RECOMENDACIONES

Dadas las dificultades para la extracción de ADN de algunas muestras, se recomienda darles un manejo adecuado a las muestras destinadas a los análisis de laboratorio, esto incluye fijar el tejido en etanol al 96% o bien, congelar las muestras lo más rápido posible evitando eventos continuos de congelamiento y descongelamiento. Adicionalmente, dado que las muestras utilizadas en este trabajo corresponden únicamente a la temporada invernal, es posible que solo estemos observando una parte de la variabilidad genética de la especie, ya que la codorniz Moctezuma presenta grandes fluctuaciones poblacionales entre una generación y otra, ocasionando distintos patrones de variabilidad genética entre generaciones. Por lo que la obtención estandarizada de muestras en distintas épocas del año y en años consecutivos nos permitirá una visión más precisa de su variabilidad genética.

Es recomendable el uso de marcadores moleculares diseñados para *C. montezumae* para tener especificidad y mayor certeza en los resultados sobre variabilidad genética. De igual manera, un mayor esfuerzo de muestreo que incluya muestras del centro de Arizona, centro de Texas y del resto de la distribución de la especie en México será de gran ayuda para determinar la estructura genética poblacional a mayor escala.

IX. LITERATURA CITADA

Albers, R. P., y F. R. Gehlbach. 1990. Choices of feeding habitat by relict Montezuma quail in central Texas. The Wilson Bulletin 102:300-308.

Allendorf, F. W., P. R. England, G. Luikart, P. A. Ritchie, y N. Ryman. 2008. Genetic effects of harvest on wild animal populations. Trends in ecology & evolution *23*(6), 327-337.

Allendorf, F. W., y G. Luikart. 2007. Conservation and the Genetics of Populations. Blackwell Publishing. Oxford, Inglaterra.

Archer, S. R., y K. I. Predick. 2008. Climate change and ecosystems of the southwestern United States. Rangelands 30, 23-29.

Arif, I. A., y H. A. Khan. 2009. Molecular markers for biodiversity analysis of wildlife animals: a brief review. Animal Biodiversity and Conservation *32*:9-17.

Armstrong, K. 2006. Texas quails: ecology and management. Texas A&M University Press. Texas, Estados Unidos de América.

Berkman, L. K., C. K. Nielsen, C. L. Roy, y E. J. Heist. 2013. Population genetic structure among bobwhite in an agriculturally modified landscape. The Journal of Wildlife Management 77:1472-1481.

BirdLife International. 2016. *Cyrtonyx montezumae*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016:e.T22728212A94975065. http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20163.RLTS.T22728212A94975065. Downloaded on 11 December 2017.

Brown, D. E. 1979. Factors influencing reproductive success and population densities in Montezuma quail. The Journal of Wildlife Management 43:522-526.

Caballero, A., y M. A. Toro. 2002. Analysis of genetic diversity for the management of conserved subdivided populations. Conservation Genetics 3:289-299.

Carrol, J. 1994. Family Odontophoridae (New World quails). 412-433 p. En: del Hoyo, J., Elliot A. Sargatal, J. (Eds.), Handbook of the Birds of the Worlds Vol II: New world vulture to guinea fowl. Lynx Edicions, Barcelona, España.

Chavarria, P. M. 2013. Ecology of Montezuma Quail in Southeast Arizona. Doctoral Dissertation. Texas A&M University. College Station, Texas, Estados Unidos de América.

Coombs, J. A., B. H. Letcher y K. H. Nislow. 2008. CREATE: a software to create input files from diploid genotypic data for 52 genetic software programs. Molecular ecology resources, 8:578-580.

Earl, D. A. 2012. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. Conservation Genetics Resources 4:359-361.

Eguiarte L. E., V. Souza, y X. Aguirre. 2007. Ecología molecular. SEMARNAT, CONABIO, Inst. de Ecología UNAM. Ciudad de México, México.

Eo, S. H., J. M. Doyle, y J. A. DeWoody. 2011. Genetic diversity in birds is associated with body mass and habitat type. Journal of Zoology 283:220-226.

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.

Evans, K. O., L. W. Burger Jr, y W. E. Palmer. 2012. Genetic structure of northern bobwhites in northeast Mississippi and southwest Tennessee. National Quail Symposium Proceedings 7:96:102.

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.

Frankham, R. 1996. Relationship of genetic variation to population size in wildlife. Conservation Biology 10:1500-1508.

Galbusera, P., S. Van Dongen, y E. Matthysen. 2000. Cross-species amplification of microsatellite primers in passerine birds. Conservation Genetics 1:163-168.

Gee, J. M., J. D. Calkins., y K. Petren. 2003. Isolation and characterization of microsatellite loci in hybridizing California and Gambel's quail (*Callipepla californica* and *C. gambelii*). Molecular Ecology Resources 3:35-36.

Golubov, J. y J. Ortega. 2007. Los análisis de paternidad, ¿para qué nos sirven? 163-182 p. En: Eguiarte, L.E., Souza, V., Aguirre, X. (Eds.), Ecología molecular. Instituto Nacional de Ecología. SEMARNAT. México.

Greene, C. D. 2011. Ecology of Montezuma quail in the Davis Mountains of Texas. Doctoral Dissertation. Sul Ross State University. Marfa, Texas, Estados Unidos de América.

Hale, A. M., y C. R. Hughes. 2003. Characterization of polymorphic microsatellite loci in a neotropical wood-quail, *Odontophorus leucolaemus*. Molecular Ecology Resources 3:508-510.

Harris, R. B., W. A. Wall, y F. W. Allendorf. 2002. Genetic consequences of hunting: what do we know and what should we do? Wildlife Society Bulletin 30:634-643.

Harveson, L. A. 2009. Management of Montezuma quail in Texas: barriers to establishing a hunting season. 322-327 p. En: S. B. Cederbaum, B. C. Faircloth, T. M. Terhune, J. J.

Thompson, J. P. Carroll (Eds.). National Quail Symposium Proceedings. 31 de mayo al 4 de junio del 2006. Athens, Georgia, Estados Unidos de América.

Hedrick, P. 2011. Genetics of populations. Jones & Bartlett Learning. Tempe, Estados Unidos de América.

Heffelfinger, J. R., y R. J. Olding. 2000. Montezuma quail management in Arizona. 183-190 pp. En L. A. Brenan, W. E. Palmer, L. W. Burger, T L. Pruden (Eds.). National Quail Symposium Proceedings. Tallahassee, Florida, Estados Unidos de América.

Hendrix, R., J. Susanne Hauswaldt, M. Veith, y S. Steinfartz. 2010. Strong correlation between cross-amplification success and genetic distance across all members of 'True Salamanders'(Amphibia: Salamandridae) revealed by *Salamandra salamandra*-specific microsatellite loci. Molecular Ecology Resources 10:1038-1047.

Hernandez, F., E. Garza, L. A. Harveson, y C. E. Brewer. 2009. Fate and survival of radio-marked Montezuma quail. 183-190 pp. En: S. B. Cederbaum, B. C. Faircloth, T. M. Terhune, J. J. Thompson, J. P. Carroll (Eds.). National Quail Symposium Proceedings. 31 de mayo al 4 de junio del 2006. Athens, Georgia, Estados Unidos de América.

Holdermann, D. A. 1992. The geographic distribution, relative population abundance, and habitat characteristics of Montezuma quail in southwestern New Mexico. Final Report Professional Services Contract Numbers 80-516-41 and 80-516-83, New Mexico Departmen of Game and Fish, Santa Fe, New México, USA.

Hosner, P. A., E. L. Braun, y R. T. Kimball. 2015. Land connectivity changes and global cooling shaped the colonization history and diversification of New World quail (Aves: Galliformes: Odontophoridae). Journal of Biogeography, 42:1883-1895.

Hulce, D., X. Li, T. Snyder-Leiby y C. J, Liu. 2011. GeneMarker® genotyping software: Tools to increase the statistical power of DNA fragment analysis. Journal of Biomolecular Techniques: JBT 22(Suppl), S35.

Jensen, A. M., N. P. O'Neil, A. N. Iwaniuk, y T. M. Burg. 2019. Landscape effects on the contemporary genetic structure of Ruffed Grouse (*Bonasa umbellus*) populations. Ecology and Evolution 9:5572-5592.

Kashi, Y. y M. Soller. 1998. Functional roles of microsatellites and minisatellites. 10-23 p. En: D.B. Goldstein y C. Schlötterer (Eds.). Microsatellite evolution and aplications. Oxford University Press, New York, Estados Unidos de América.

Kawecki, T. J., y D. Ebert. 2004. Conceptual issues in local adaptation. Ecology letters 7:1225-1241.

Leopold, A. S. y R. A. McCabe. 1957. Natural history of the Montezuma quail in Mexico. The Condor 59:3-26.

Lesica, P., y F. W. Allendorf. 1995. When are peripheral populations valuable for conservation?. Conservation Biology 9:753-760.

López-Bujanda, O. E. 2019. Dieta invernal de la codorniz Moctezuma *Cyrtonyx montezumae* en Arizona y Nuevo México. Tesis de Maestría. Universidad de Sonora. Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas. Hermosillo, Sonora, México.

Manel, S., M. K. Schwartz, G. Luikart, y P. Taberlet. 2003. Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. Trends in Ecology & Evolution 18:189-197.

Mantel, N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. Cancer research 27:209-220.

Mathur, S., J. M. Tomeček, A. Heniff, R. Luna, y J. A. DeWoody. 2019. Evidence of genetic erosion in a peripheral population of a North American game bird: the Montezuma quail (Cyrtonyx montezumae). Conservation Genetics 20:1-13.

Menger, J., J. Unrein, M. Woitow, M. Schlegel, K. Henle, y W. E. Magnusson. 2017. Weak evidence for fine-scale genetic spatial structure in three sedentary Amazonian understorey birds. Journal of Ornithology 159:1-12.

Miller, K. S., L. A. Brennan, R. W. DeYoung, F. Hernández, y X. B. Wu. 2017. Genetic Diversity and Relatedness Within and Among Northern Bobwhite Coveys in South Texas. En: T. V. Dailey, R. D. Applegate. National Quail Symposium Proceedings. 26 al 28 de julio del 2017. Knoxville, Tennessee, Estados Unidos de América

Neff, B. D., y M. R. Gross. 2001. Microsatellite evolution in vertebrates: inference from AC dinucleotide repeats. Evolution 55:1717-1733.

Orange, J. P., C. A. Davis., R. A. Van Den Bussche., S. D. Fuhlendorf., D. R. Elmore., E. T. Thacker., y M. E. Judkins. 2014. Development and characterization of 23 microsatellite loci for scaled quail (*Callipepla squamata*). Conservation Genetics Resources 6:929-931.

Primmer, C. R., A. P. Møller, y H. Ellegren. 1996. A wide-range survey of cross-species microsatellite amplification in birds. Molecular Ecology 5:365-378.

Primmer, R. C., J. N. Painter, M. T. Koskinen, J. U. Palo, y J. Merilä. 2005. Factors affecting avian cross-species microsatellite amplification. Journal of Avian Biology 36:348-360.

Reed, D. H., y R. Frankham. 2003. Correlation between fitness and genetic diversity. Conservation biology 17:230-237.

Rousset, F. 2014. Genepop 4.3 for Windows/Linux/Mac OS X. This documentation: July, 8, 2014.

Schable, N. A., B. C. Faircloth, W. E. Palmer, J. P. Carroll, L. W. Burger, L. A. Brennan, C. Hagen, y T. Glenn. 2004. Tetranucleotide and dinucleotide microsatellite loci from the northern bobwhite (*Colinus virginianus*). Molecular Ecology Notes 4:415–419.

Seager, R., M. Ting, I. Held, Y. Kushnir, J. Lu, G. Vecchi, H. P. Huang, N. Harnik, A. Leetma, N. C. Lau, C. Li, J. Velez y N. Naik. 2007. Model projections of an imminent transition to a more arid climate in southwestern North America. Science 316:1181-1184.

Slatkin, M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. Genetics 139:457-462.

Smouse, R. P. P. y R. Peakall. 2012. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. Bioinformatics 28:2537-2539.

Stromberg, M. R. 1990. Habitat, movements and roost characteristics of Montezuma quail in southeastern Arizona. Condor 92:229-236.

Stromberg, M. R. 2000. Montezuma Quail (*Cyrtonyx montezumae*). The Birds of North America Online (A. Poole, Ed.). Retrieved from the Birds of North America Online: http://bna.birds.cornell.edu.bnaproxy.cornell.edu/bna/species/524

Sullivan, B.L., C.L. Wood, M.J. Iliff, R.E. Bonney, D. Fink, and S. Kelling. 2009. eBird: a citizen-based bird observation network in the biological sciences. Biological Conservation 142:2282-2292.

Templeton, A. R., K. Shaw, E. Routman, y S. K. Davis. 1990. The genetic consequences of habitat fragmentation. Annals of the Missouri Botanical Garden 13-27.

Terhune, T. M. 2008. Effects of translocation on population genetics and demographics of a northern bobwhite (*Colinus virgnianus*) population among a fragmented landscape in southwestern Georgia. Doctoral Dissertation. University of Georgia. Athens, Georgia, Estados Unidos de América.

United States Department of Agriculture Forest Service (USDAFS). 2017. Ecological subsections by climate. FSGeodata Clearinghouse. Actualizado el 26 de septiembre del 2019. (https://data.fs.usda.gov/geodata/edw/datasets.php).

United States Department of Agriculture Forest Service (USDAFS). 2017. Ecological subsection: Potential Natural Vegetation. FSGeodata Clearinghouse. Actualizado el 26 de septiembre del 2019. (https://data.fs.usda.gov/geodata/edw/datasets.php).

Van Oosterhout, C., W. F. Hutchinson., D. P. Wills., y P. Shipley. 2004. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. Molecular Ecology Resources 4:535-538.

Vigors, N. A. 1830. Notice on some new species of birds. The Zoological Journal 5: 273-275.

Wauer, R. H. 1973. Birds of Big Bend National Park and vicinity. University of Texas Press. Texas, Estados Unidos de América.

Williams, C. K., R. S. Lutz, y R. D. Applegate. 2003. Optimal group size and northern bobwhite coveys. Animal Behaviour 66: 377-387.

Williams, A. P., C. D. Allen, C. I. Millar, T. W. Swetnam, J. Michaelsen, C. J. Still, y S. W. Leavitt. 2010. Forest responses to increasing aridity and warmth in the southwestern United States. Proceedings of the National Academy of Sciences, 107:21289-21294.

Williford, D., R. W. Deyoung, R. L. Honeycutt, L. A. Brennan, F. Hernández, E. M. Wehland, J. P. Sands, S. J. Damaso, K. S. Miller, y R. M. Perez. 2014. Contemporary genetic structure of the northern bobwhite west of the Mississippi River. The Journal of Wildlife Management 78:914-929.

Williford, D., R. W. DeYoung, y L. A. Brennan. 2017. Molecular Ecology of New World Quails: Messages for Managers. In National Quail Symposium Proceedings 8:20

Wright, S. 1951. The genetical structure of populations. Annals of Human Genetics 15:323-354.

X. APÉNDICES

APÉNDICE I

A continuación, se muestran los números de licencia bajo los que fueron cazados los individuos de *C. montezumae* utilizados en este trabajo:

Departamento de Caza y Pesca de Arizona

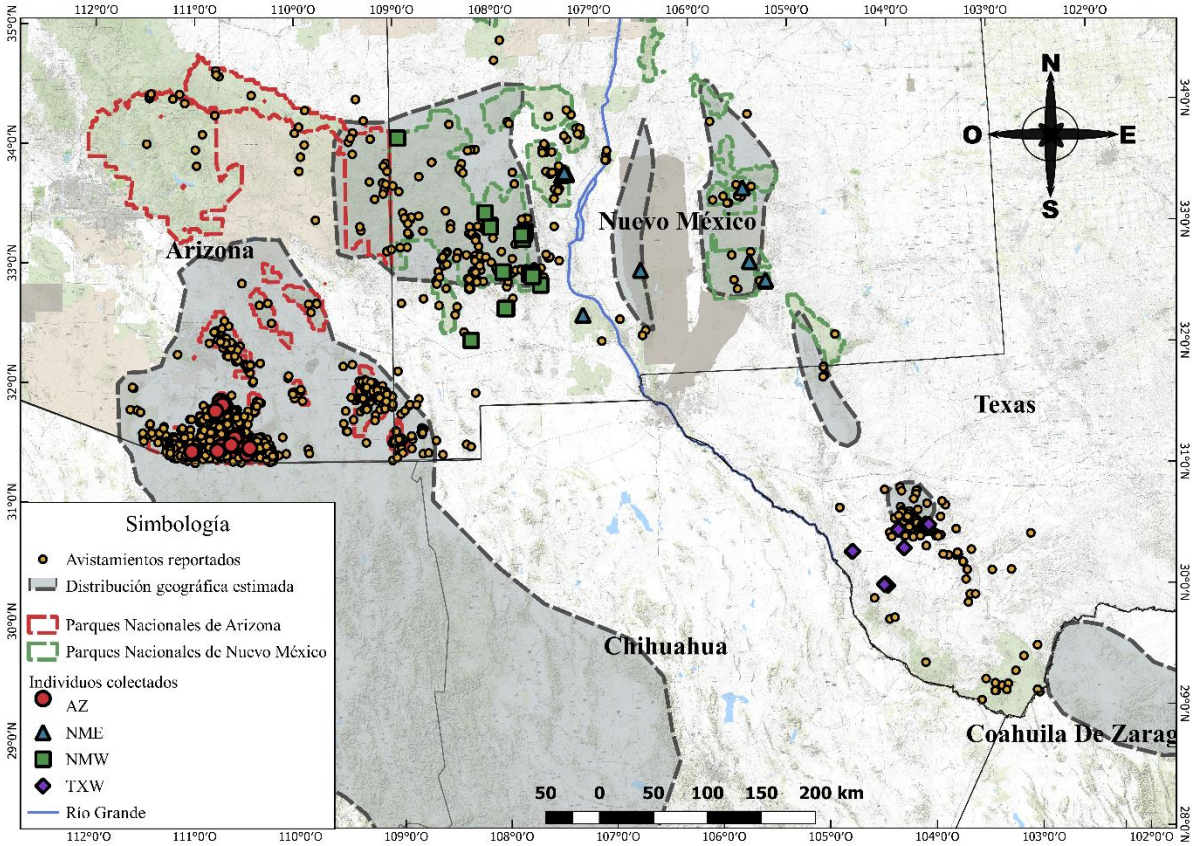
2016 AZ Guide License #SP745596, 2017 AZ Guide #WSP505248.

Departamento de Caza y Pesca de Nuevo México

524569, 590740, 588550, 588724, 1081402, 1009452, 1028253, 1011022, 1178943, 1181966, 1195916, 1215745, 1199267, 1603426, 1565216, 1563493, 1537937, 1560079, 1567186.

Departamento de Parques y Vida Silvestre de Texas

SCIENTIFIC PERMIT SPR-0410-139

APÉNDICE II

Mapa de los avistamientos reportados en la plataforma digital eBird para *Cyrtonyx montezumae* y los parques nacionales de Arizona y Nuevo México donde se encuentra la especie. También se muestran los individuos colectados utilizados en este trabajo.