



UNIVERSIDAD REGIONAL AMAZÓNICA IKIAM

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA VIDA

INGENIERÍA EN ECOSISTEMAS

**“REANÁLISIS DE ESTRUCTURA POBLACIONAL Y DIVERSIDAD GENÓMICA ENTRE DOS
ESPECIES DE AVES DE LA COSTA OESTE DE NORTEAMÉRICA”**

Autor: Victor Alberto Rueda Serrano

Tutor: Ery Odette Fukushima, PhD

Co-tutor: Patricia Salerno, PhD

Tena, enero 2022

Napo, Ecuador

Declaración de derecho de autor, autenticidad y responsabilidad

Tena, 30 de septiembre de 2021

Yo, Víctor Alberto Rueda Serrano con documento de identidad N°2000095626, declaro que los resultados obtenidos en la investigación que presento en este documento final, previo a la obtención del título de Ingeniero en Ecosistemas, son absolutamente inéditos, originales, auténticos y personales.

En virtud de lo cual, el contenido, criterios, opiniones, resultados, análisis, interpretaciones, conclusiones, recomendaciones y todos los demás aspectos vertidos en la presente investigación son de mi autoría y de mi absoluta responsabilidad.

Por la favorable atención a la presente, suscribo de usted,

Atentamente,

Firma:



Victor Alberto Rueda Serrano

Certificado de dirección de trabajo de integración curricular

Certifico que el trabajo de integración curricular titulado: **Reanálisis de estructura poblacional y diversidad genómica entre dos especies de aves de la Costa Oeste de Norteamérica**, en la modalidad de: artículo, fue realizado por: Victor Alberto Rueda Serrano, bajo mi dirección.

El mismo ha sido revisado en su totalidad y analizado por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto, cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad Regional Amazónica Ikiam, para su entrega y defensa.

Tena, 30 de septiembre de 2021

Firma:



PhD. Ery Odette Fukushima

C.I: 1759301714



PhD. Patricia Salerno Domínguez

C.I: 1759267857

Agradecimientos

El presente trabajo de titulación es un hito relevante en mi vida personal y académica donde es fundamental expresar mi profundo agradecimiento en esta travesía a mi madre, Ana Maritza, por haber forjado en mí todas las cualidades para afrontar cada meta con determinación y honestidad. También al apoyo incondicional de mi hermana Stephania y mi padre Victor Hugo en cada paso que he dado desde que inicié mi vida universitaria.

Agradezco a mi tutora Patricia Salerno, por su respaldo, paciencia y supervisión en este proyecto de titulación, generando la confianza y motivación en descubrir esta nueva área de conocimiento durante este año singular post pandemia. Debo resaltar el esfuerzo y su guía junto a mi co tutora Ery Fukushima que le agradezco extensamente por confiar en mis capacidades durante este proceso.

Este camino en la Universidad Regional Amazónica Ikiam, estuvo sustentada por el apoyo incondicional de Sr. John Sample y su corporación Sample Group Pty. Ltd desde la mitad de mi carrera, en momentos tanto prolíficos como complejos, durante mi estancia en la región.

Finalmente, agradezco a mis amigos y compañeros que conocí a lo largo de esta etapa, de los cuales valoro su empatía y vocación por conservar el patrimonio de nuestra Amazonía ecuatoriana.

Dedicatoria

Dedico este trabajo de titulación a mis seres queridos que durante mi formación académica han dejado de existir físicamente y fueron parte de mi motivación e inspiración para poder culminar mi carrera. Para mi abuelo Alberto, quien me enseñó a ser constante en lo que me proponga manteniendo en alto mis principios e ideales.

Al mismo tiempo quiero extender esta dedicatoria a mis tíos Medardo Alberto y Julieta, seres queridos que siempre estuvieron apoyándome a la distancia. Estoy seguro que ellos comparten mi satisfacción por el deber cumplido.

Finalmente, incluyo en esta dedicatoria a las personas que han tenido un impacto positivo en mi vida, que por casualidades y otras circunstancias fueron parte de este proceso de formación como profesores, familiares compañeros y amigos. Este logro lo comparto con ustedes.

Resumen

La genómica para la conservación es considerada como una herramienta emergente en la evaluación de la estructura poblacional de las especies. Sin embargo, la interpretación de estos resultados (estructura poblacional) están condicionados por el tipo de metodologías aplicadas a muestreos, secuenciación de genomas y tratamiento de matrices SNPs, y debido a que son técnicas nuevas, aún no se han establecido estándares para muchos de estos pasos. Con esta premisa, este estudio propone el reanálisis de las poblaciones de 2 especies de aves, *Strix nebulosa* (5 poblaciones) y *Falco mexicanus* (4 poblaciones), para evaluar el efecto de submuestreos poblacionales e individuales en las estimaciones de estructura poblacional, inferencias de 'admixture' y de varias medidas de heterocigosidad, todas cruciales para evaluar el estado de conservación de una especie así como su manejo. Ambas especies han sido previamente evaluadas con sus respectivas bases de datos en el repositorio digital Dryad. A pesar de compartir características ecológicas, distribución y estado de conservación, poseen diferencias en su diversidad genética relacionado al aislamiento geográfico por parte de los búhos y altos niveles de *admixture* en el caso de los halcones (población panmítica). El presente reanálisis tuvo como objetivo identificar posibles sensibilidades estadísticas al evaluar los submuestreos de ambas especies utilizando filtros como la exclusión de poblaciones y de individuos en las matrices de SNPs. Utilizando los paquetes de análisis bioestadístico *adegenet* y diversidad genética *hierfstat* en el software R se obtuvieron nuevos sets de resultados para cada submuestreo aplicado. Estos resultados demostraron susceptibilidades bioestadísticas en las condiciones de submuestreo evaluadas. Las diferencias con los estudios previos sugieren que la representación de sus estructuras poblacionales son influenciadas por el grado de divergencia genética entre sus poblaciones. Las nuevas características genéticas no descritas previamente mejoran la resolución de las estructuras poblacionales de las especies de interés ampliando herramientas para la conservación de las especies.

Palabras clave: SNPs; admixture; panmixia; divergencia genética; estructura poblacional; Diversidad genética

Abstract

Conservation genomics is considered an emerging tool for assessing species population structure. However, the interpretation of these results on population structure is conditioned by different methodologies in sampling, genome sequencing, and SNP matrix treatment, and their effect is still poorly known. Here, we analyze SNP matrices of two bird species that were previously published: the great gray owl, *Strix nebulosa* (5 populations), and the prairie falcon, *Falco mexicanus* (4 populations). These two species share ecological characteristics, distribution patterns (home range), and conservation status, yet they differ in their inferred population structure, as *S. nebulosa* populations have high levels of population differentiation, while *F. mexicanus* populations have high levels of admixture. We reanalyzed these datasets with the goal of assessing whether the interpretations and results of population structure and admixture analyses were sensitive to various subsamplings and exclusions of both populations and individuals. Using the packages *adegenet* and *hierfstat* in R we obtained new graphical inferences of population structure for each subsampling applied. We find there are some sensitivities to the subsampling conditions evaluated. In particular, the more highly structured great gray owl populations show sensitivities of individual admixture inference based on the population and individual subsampling, while the more heterogeneous (panmictic) falcon shows contrasting differences than the previous research proposing substructures/differentiation in two populations with population and individual subsampling inferences. The main differences with previously published analyses suggest the degree of genetic divergence between their populations has an important effect on population and admixture inference, as well as the type of analysis. The representation of their population structures is influenced by the degree of genetic divergence between their populations. Further, our reanalysis improves the resolution of the species population structures and provides, acquiring new perspectives and criteria for the management and conservation of endangered species.

Key words: SNPs, admixture, panmixia, population structure, genetic diversity, connectivity

Índice General

1	Introducción	1
2	Materiales y Métodos.....	3
2.1	<i>Revisión previa de datos sobre especies analizadas</i>	3
2.2	<i>Depuración y clasificación de matrices de SNPs recuperadas</i>	4
2.3	<i>Planteamiento de Agrupaciones y sub muestreos de matrices</i>	6
2.4	<i>Análisis Bioestadísticos sobre matrices SNPs</i>	6
2.5	<i>Elaboración de Modelos de Estructura Poblacional</i>	7
2.6	<i>Heterocigosidad y diferenciación poblacional (Diversidad genética)</i>	8
3	Resultados	8
3.1	<i>Análisis de componentes principales (PCA) de Strix nebulosa</i>	8
3.2	<i>Análisis Discriminante de Componentes Principales para Strix nebulosa</i>	11
3.3	<i>Diversidad y divergencia genómica de Strix nebulosa</i>	14
3.4	<i>Análisis de componentes principales (PCA) de Falco mexicanus</i>	17
3.5	<i>Análisis Discriminante de Componentes Principales para Falco mexicanus</i>	19
3.6	<i>Diversidad y divergencia genómica de Falco mexicanus</i>	25
4	Discusión	29
4.1	<i>Estructura Poblacional de Strix nebulosa</i>	30
4.2	<i>Estructura poblacional de Falco mexicanus</i>	32
4.3	<i>Diversidad Genética de Strix nebulosa y Falco mexicanus</i>	35
5	Conclusiones y Recomendaciones.....	35
	Referencias	37
	Anexos (Material suplementario).....	45

Índice de tablas

Tabla 1. Valores de Diversidad Genética de <i>Strix nebulosa</i> incluye índices Ho: heterocigocidad ; Hs: diversidad genética dentro de la población; Ht: diversidad genética general; Fst: índice de fijación; Fis: coeficiente de consanguinidad por loci.....	15
Tabla 2. Índices de Fijación en pares <i>Strix nebulosa</i> para el análisis de las 5 poblaciones (Idaho ID, Oregon Norte ORN, Oregon Sur ORS, California CA y. Wyoming WY).....	16
Tabla 3. Valores de diversidad genética de <i>Falco mexicanus</i> incluye índices Ho: heterocigocidad; Hs: diversidad genética dentro de la población; Ht: diversidad genética general; Fst: índice de fijación; Fis: coeficiente de consanguinidad por loci.....	25
Tabla 4. Índices de fijación por pares (Fst pairwise) en pares <i>Falco mexicanus</i> para el análisis de las 4 poblaciones: East Bay, Idaho, Pinnacles y Mojave.....	30

Índice de figuras

Figura 1. (a) Mapa de distribución de poblaciones (<i>Strix nebulosa</i>) (b) Mapa de distribución y ubicación de poblaciones estudiadas (<i>Falco mexicanus</i>).....	5
Figura 2. (a)Análisis de componentes principales de 15 poblaciones de <i>Strix nebulosa</i> reanalizadas. (b) Análisis discriminante de componentes principales (DAPC) de 5 poblaciones reanalizadas. (c) Gráfico de estructura poblacional obtenido del reanálisis (<i>Strix nebulosa</i>) utilizando el paquete <i>adegenet</i>	10
Figura 3. Gráficos de Estructura Poblacional obtenido del reanálisis (<i>Strix nebulosa</i>)....	13
Figura 4. Gráficos de estructura poblacional entre 2 poblaciones de <i>Strix nebulosa</i> y submuestras (subgrupos A, B, C) utilizando el paquete <i>adegenet</i>	14
Figura 5. (a) Análisis de componentes principales de las 4 poblaciones reanalizadas de <i>Falco mexicanus</i> (b) Análisis Discriminante de componentes principales de las 4 poblaciones reanalizadas de <i>Falco mexicanus</i> . (c) Gráfico de Estructura Poblacional obtenido del reanálisis (<i>Falco mexicanus</i>) utilizando el paquete <i>adegenet</i>	19
Figura 6. Gráfico de Estructura Poblacional obtenido del reanálisis (<i>Falco mexicanus</i>) utilizando el paquete <i>adegenet</i>	21
Figura 7. Gráficos de Estructura Poblacional del reanálisis de (<i>Falco mexicanus</i>) en 4 poblaciones y sus submuestras: (a) subgrupo A, (b) Subgrupo B y (c) Subgrupo C.....	22
Figura 8. Gráficos de estructura poblacional obtenido del reanálisis (<i>Falco mexicanus</i>) entre 2 poblaciones re-analizadas y sus submuestras (Subgrupos A, B y C).....	24
Figura 9. Estructura poblacional y proporción de ‘admixture’ de (a) El reanálisis de los datos usando el total de las muestras mediante la representación gráfica del DAPC de 5 poblaciones; y (b) Gráfica de Estructura poblacional previamente publicada por Mendelsohn, et al. 2020	28
Figura 10. Estructura poblacional y ‘admixture’ de (a) El reanálisis de los datos reanalizadas de <i>Falco mexicanus</i> ; y (b) Gráfica de Estructura poblacional previamente publicada por Doyle, et al. 2018,	29

Índice de anexos

Anexo-1. Gráfica de Análisis de Componentes Principales <i>S. nebulosa</i> (submuestras). (a) sin ID, (b) sin WY (c) sin CA, (d) sin OR N y (d) sin OR S.....	45
Anexo-2. Análisis de componentes principales de 3 y 2 poblaciones de <i>S. nebulosa</i> (submuestras) a. Sin Oregon Norte y Oregon Sur (CA-ID-WY) b. (ID) y (WY).....	47
Anexo-3. Valores de K obtenidos con <i>adegenet</i> durante el análisis discriminante de componentes principales por medio de criterio de inferencia Bayesiana para las 5 poblaciones de <i>Strix nebulosa</i> y sus submuestras a nivel de poblaciones y subgrupo.....	48
Anexo-4. Gráfico de Estructura Poblacional obtenido del reanálisis (<i>Strix nebulosa</i>) utilizando el paquete <i>adegenet</i> . (a) 4 poblaciones sin CA, (b) 4 poblaciones sin ID y (c) 4 poblaciones sin WY en cada caso se excluyó una población.	48
Anexo-5. Análisis Discriminante de componentes principales de submuestreo A, B y C de las 4 poblaciones reanalizadas de <i>Falco mexicanus</i> a (East Bay EB= 25, Idaho ID=14 Pinnacles PS=25, Mojave MJ=17). Los dos primeros ejes explican más del 85 y 75 %. de la variación entre individuos de cada población.....	50
Anexo-6. Gráfico de Estructura Poblacional obtenido del reanálisis (<i>F. mexicanus</i>) utilizando el paquete <i>adegenet</i> . Cada barra representa un individuo de <i>F. mexicanus</i> en cada análisis de 3 poblaciones (a,b,c y d) y 2 poblaciones (e, f, g, h) , excluyendo en cada caso una población. Cada color representa una población separado de las demás con líneas verticales negras. (East Bay EB= 37, Idaho ID=14, Pinnacles PS=32, Mojave MJ=17). Los valores de asignación por grupo (población) fluctúa entre el 70% a 57%. No se presenta una identidad genética para cada una de las poblaciones identificando. sólo un grupo independiente.....	51
Anexo-7. Gráficos de Estructura Poblacional obtenido del reanálisis (<i>F. mexicanus</i>) entre 3 poblaciones y sus submuestras (Subgrupos A, B y C) excluyendo en cada caso una población: Idaho, Mojave y Pinnacles (a,b,c): East Bay, Mojave y Pinnacles (d,e,f); East Bay, Idaho y Pinnacles (g,h,i). Cada barra representa un individuo de <i>Falco mexicanus</i> de las 4 poblaciones reanalizadas. (East Bay EB= 37, Idaho ID=14,Pinnacles PS=32, Mojave MJ=17) y para los subgrupos A, B y C con sub muestras aleatorias de East Bay y Pinnacles.....	53
Anexo-8. Gráficos de Estructura Poblacional obtenido del reanálisis (<i>Falco mexicanus</i>) entre 2 poblaciones y sus submuestras (Subgrupos A, B y C) excluyendo en cada caso dos poblaciones: Mojave- Pinnacles (a,b,c); Idaho Pinnacles (d,e,f) y East Bay-Pinnacles (g,h,i). Cada barra representa un individuo de <i>Falco mexicanus</i> de las 4 poblaciones reanalizadas. (East Bay EB= 37, Idaho ID=14, Pinnacles PS=32, Mojave MJ=17) y para los subgrupos A, B y C con sub muestras aleatorias de East Bay y Pinnacles (East Bay EB= 25, Idaho ID=14, Pinnacles PS=25, Mojave MJ=17).....	54

Anexo-9. Valores de K obtenidos con el paquete *adegenet* durante el análisis discriminante de componentes principales. Valores obtenidos para el análisis completo de las muestras de las 4 poblaciones de *Falco mexicanus* y sus submuestreos a nivel de poblaciones y subgrupos.....55

Anexo-10. (a) Curva BIC del valor K=1 del análisis de 2 poblaciones (East Bay-Idaho) de *Falco mexicanus*; (b) Curva BIC del valor K=1 del análisis de 2 poblaciones de *Falco mexicanus* (East Bay-Idaho) para el subgrupo A; (c)) Curva BIC del valor K=1. del análisis de 2 poblaciones de *Falco mexicanus* (East Bay-Idaho) para el subgrupo B; (d)) Curva BIC del valor K=1 del análisis de 2 poblaciones de *Falco mexicanus* (East Bay-Idaho) para el subgrupo C.....56

1 Introducción

La fragmentación de los ecosistemas producto de actividades antrópicas es una amenaza latente para la diversidad de especies y genética (Haddad et al., 2015; Lindenmayer & Fischer, 2006; Richard Frankham et al., 2019). La diversidad genómica de las especies está directamente relacionada a procesos genéticos y evolutivos (Klütsch et al., 2012; Lees et al., n.d.; Reid et al., 2019) que son resultado de actividades tanto naturales y humanas, así como el aislamiento de poblaciones, flujo genético (migración) y la discontinuidad de hábitats (Luck et al., 2003; Provan & Maggs, 2011; Weckworth et al., 2013). Para la conservación de las especies amenazadas, la aplicación de las herramientas ómicas provee nuevas alternativas de manejo y evaluación (Fromhage et al., 2009; Hand et al., 2015; Hohenlohe et al., 2021; Soulé, 1986, p. 570). La genómica de la conservación es una alternativa idónea a la genética clásica (donde se utilizan cantidades limitadas de loci o sitios del genoma) (Kinnison & Hairston, 2007; Primmer, 2009; Steiner et al., 2013) debido a su capacidad estadística de decifrar cambios demográficos en las poblaciones en lapsos menores de tiempo (historia reciente).

El uso de la genómica para la conservación está condicionado a ciertos aspectos de la metodología y del muestreo, tales como los sitios de recolección de muestras, la secuenciación parcial o total de genomas, y el protocolo de obtención de librerías y matrices de SNPs (Single Nucleotide Polymorphism por sus siglas en inglés, o polimorfismo de único nucleótido) (Funk et al., 2012; John C Avise, 2004; Supple & Shapiro, 2018), las mismas que son sometidas a análisis bioinformáticos y estadísticos generando nuevas propuestas para la conservación de especies (Bianchi & Liò, 2017; Kozakiewicz et al., 2019). Dado el reciente desarrollo de estas metodologías genómicas para organismos no modelo (con escasa o nula de información genética previa), estas herramientas emergentes muestran ciertos vacíos y limitaciones en el tratamiento de datos genómicos (Supple & Shapiro, 2018), lo cual puede influir en la interpretación de los resultados sobre el estado de la población de especies de interés.

A partir de las premisas anteriormente mencionadas, se proponen el reanálisis de dos bases de datos disponibles, recuperados del repositorio Dryad y previamente publicadas, el gran búho gris (*Strix nebulosa*) (Mendelsohn et al., 2020) y el halcón mexicano/pálido (*Falco*

mexicanus) (Doyle et al., 2018). Estos estudios fueron escogidos debido a que poseen características ecológicas y geográficas similares como: su rango de distribución y el rol ecológico de depredador en sus ecosistemas, estado de conservación similar (International Union for Conservation of Nature and Natural Resources, 2001, p. 25), tamaño poblacional de las muestras obtenidas aceptable, matrices de SNPs disponibles en repositorios abiertos, y antecedentes similares sobre el alto nivel de perturbación antrópica en su rango de distribución (Doyle et al., 2018; Mendelsohn et al., 2020). Para el gran búho gris (*Strix nebulosa*) se muestrearon un total de 5 poblaciones en el noroeste de Norteamérica, y para el halcón mexicano/pálido (*Falco mexicanus*) se muestrearon un total de 4 poblaciones en el mismo sector. En contraste con sus similitudes, las especies poseen diferencias en su estructura poblacional, como el caso de los halcones mexicanos al poseer un comportamiento panmítico, mientras que los búhos poseen poblaciones altamente diferenciadas (divergentes) (Doyle et al., 2018; Mendelsohn et al., 2020).

El uso de software de análisis de estructura poblacional en ambos estudios de referencia como STRUCTURE, dedicados a la identificación de grados de admixture y la divergencia entre poblaciones, se muestran como alternativa idónea en los estudios poblacionales a nivel genómico (Porrás-Hurtado et al., 2013). Los resultados previamente publicados para estas dos especies mediante el software STRUCTURE, presentan estructuras poblacionales altamente contrastantes. Para el buho gris se define un estado de diferenciación alta con 4 poblaciones definidas influenciadas por el aislamiento geográfico, mientras que para los halcones mexicanos se observó un estado de panmixia (donde los individuos de las distintas poblaciones tienen igual probabilidad de reproducirse entre ellos) y se infirió únicamente una población sin diferenciación alguna a pesar de la fragmentación de hábitats. A pesar de que estos resultados pueden reflejar verdaderas condiciones biológicas, demográficas y ecológicas de las especies, las diferencias en las metodologías, particularmente en los análisis con los softwares bioinformáticos, pudiese exacerbar o enmascarar otros patrones y estructuras demográficas de estas poblaciones (McVean, 2009; Mendelsohn et al., 2020; Porrás-Hurtado et al., 2013). Pese a la fiabilidad de la herramienta bioinformática STRUCTURE, la sensibilidad en los análisis de estructura poblacional pueden ser totalmente imprecisos por condiciones metodológicas previamente expuestas. En este sentido, La existencia de posibles sesgos durante los análisis

de las muestras en ambos estudios pueden influenciar en las inferencias de estructura poblacional (Sebastien J. Puechmaille, 2016). Como consecuencia, esto puede sugerir nuevos reanálisis para resolver incógnitas en la estructura de poblaciones no observados.

En este estudio se plantea un reanálisis de estructura poblacional con las bases de datos utilizadas en ambos estudios previos estableciendo la siguiente hipótesis: Las poblaciones de las especies de interés, el gran búho gris (*Strix nebulosa*) y el halcón mexicano (*Falco mexicanus*) son susceptibles a ciertas condiciones de análisis bioinformáticos, así como exclusión de individuos y poblaciones, los cuales al ser evaluados pudieran expresar nuevos modelos de estructura poblacional. Las inferencias referidas pueden influir en factores como la diversidad y divergencia genética de las poblaciones, las cuales son cruciales en las decisiones de manejo para ambas especies. El reanálisis propuesto tiene como objetivo general identificar sensibilidades estadísticas en los muestreos de ambos estudios, para posteriormente proponer y establecer nuevos lineamientos y condiciones para el análisis de matrices de SNPs. Con esta propuesta descrita se propone aplicar distintos filtros de exclusión tanto de poblaciones como de individuos muestreados. La comparación entre los análisis previamente publicados y los propuestos en esta investigación visibilizan posibles variantes a los resultados preliminares que complementen o contrasten condiciones o parámetros omitidos.

2 Materiales y Métodos

2.1 Revisión previa de datos sobre especies analizadas

En este estudio la información para el reanálisis de la estructura poblacional se obtuvo a partir de bases de datos recuperadas en el repositorio abierto Dryad de los siguientes dos artículos: “La Diversidad Genómica y estructura poblacional en un rango discontinuo del gran búho gris en Norteamérica”(Mendelsohn et al., 2020) y “Los nuevos avances en la filogenia y estructura poblacional del halcón mexicano (*Falco mexicanus*)”(Doyle et al., 2018). En estos estudios se recopiló información relevante sobre la historia natural de ambas especies, el gran búho gris (*Strix nebulosa*) y el halcón mexicano (*Falco mexicanus*) donde comparten características como ontogenia, interacciones ecológicas, amenazas y rangos de distribución

(Doyle et al., 2018; Mendelsohn et al., 2020). En ambos casos, el sitio de estudio de estas especies está ubicado en la región noroccidental de Estados Unidos (Figura 1), donde se realizaron la recolección de muestras de 152 individuos de búhos grises (*Strix nebulosa*) y 103 individuos de halcones mexicanos (*Falco mexicanus*) identificados dentro de 5 poblaciones y 4 poblaciones respectivamente (Doyle et al., 2018; Mendelsohn et al., 2020). Dentro de estos resultados preliminares, se emplearon matrices de SNPs que han sido obtenidas por medio de herramientas de secuenciación de próxima generación que fueron previamente filtradas, depuradas y ensambladas.

2.2 Depuración y clasificación de matrices de SNPs recuperadas

Desde el repositorio de base datos genómicos Dryad (Vision, 2010) se descargaron las matrices de SNPs depuradas de los búhos grises y halcones mexicanos previamente descritos para la familiarización de formatos, clasificación de archivos y previsualización. Con los archivos descargados, se utilizó la plataforma auxiliar ATOM (versión 1.58.0) en la visualización y edición de los mismos. ATOM es un software de edición de códigos fuentes para diferentes sistemas operativos y de código abierto (Sumangali et al., 2017). Esta herramienta mejora la revisión y edición de matrices de SNPs de gran extensión en sus pares de bases facilitando el manejo de la información (Sumangali et al., 2017).

En este proceso se obtuvieron las matrices depuradas y se identificó el número de poblaciones e individuos para cada especie estudiada. Para el gran búho gris (*Strix nebulosa*) se recuperó la matriz de SNPs con 123 individuos de 5 poblaciones estudiadas: 73 individuos para Wyoming (WY), 22 para California (CA), 11 para Idaho (ID), 8 para Oregon Norte (ORN) y 9 para Oregon Sur (ORS) (Figura. 1a). Por otro lado, en la matriz de SNPs de los halcones se recuperaron 100 individuos pertenecientes a 4 poblaciones: 37 de East Bay, 32 del Parque Nacional Pinnacles, 17 del desierto de Mojave y 14 de Snake River, Idaho. La población de Idaho forma parte de un grupo más distante de las poblaciones estudiadas, considerándose por los autores una población altamente divergente que sirve como contraste con el resto de poblaciones (Figura. 1b).

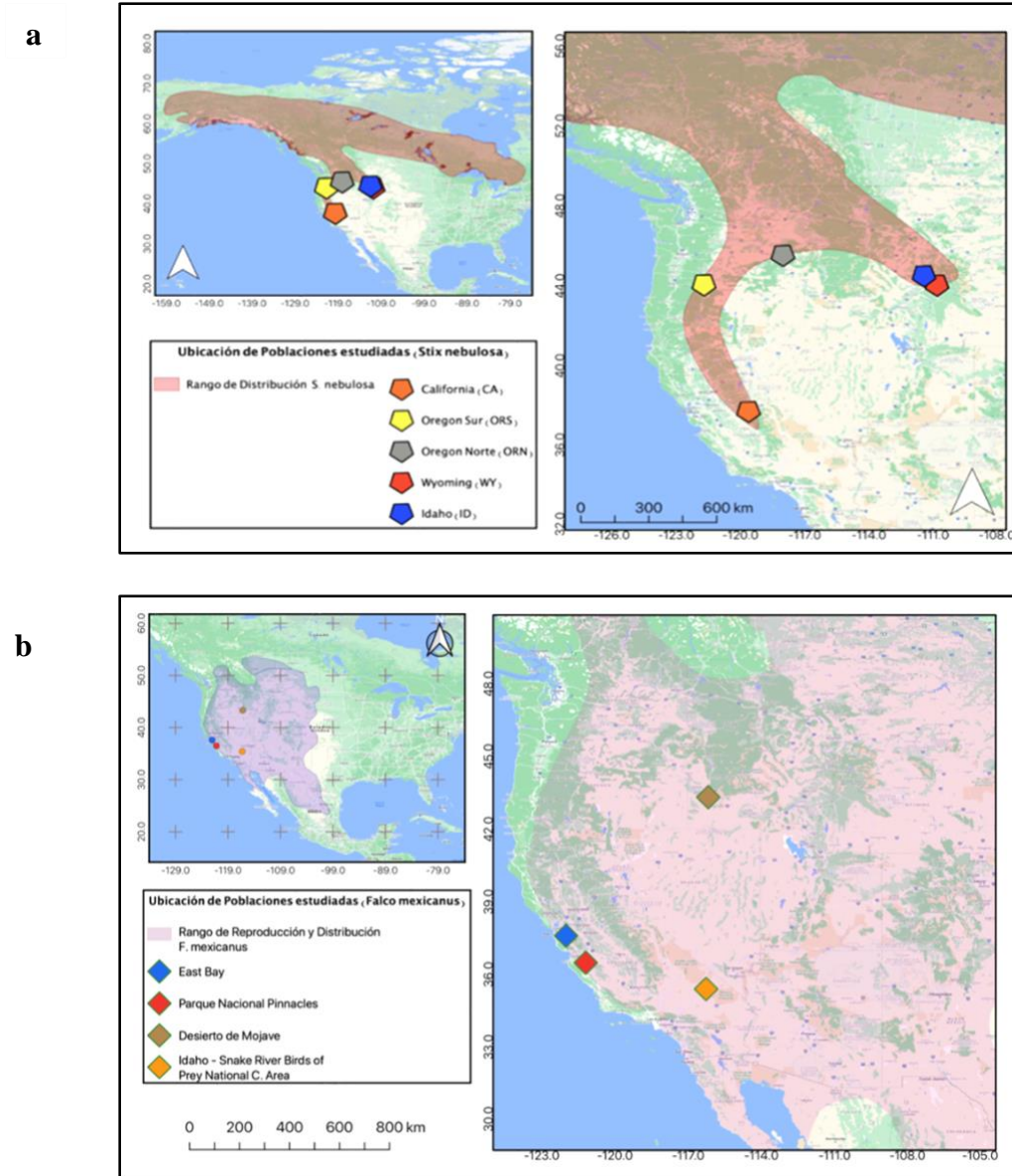


Figura 1. (a) Mapa de distribución y ubicación de poblaciones estudiadas (*Strix nebulosa*). El mapa fue realizado con el software QGIS versión 3.16.7 tomando los datos georeferenciados del artículo: “Population genomic diversity and structure at the discontinuous southern range of the Great Gray Owl in North America” Mendelsohn, et al. 2020. (b) Mapa de distribución y ubicación de poblaciones estudiadas (*Falco mexicanus*). El mapa fue realizado tomando los datos georeferenciados del artículo: “New insights into the phylogenetics and population structure of the prairie falcon (*Falco mexicanus*)” por Doyle, et al. 2018.

2.3 Planteamiento de Agrupaciones y sub muestreos de matrices

Las matrices de SNPs organizadas por medio de un editor de texto como ATOM (1.58.0) fueron duplicadas para ser sometidas a filtros acorde al número de análisis propuestos a continuación:

- Reagrupamiento de poblaciones, de tal modo que se realizaron los análisis utilizando un total de 5, 4, 3 y 2 poblaciones para los búhos grises, y de 4, 3 y 2 poblaciones para los halcones mexicanos. Las poblaciones fueron excluidas en cada submuestreo considerando las inferencias previas de divergencia entre poblaciones. Cada submuestreo de poblaciones fue guardado como un set de matrices por separado para los análisis bioestadísticos de cada subgrupo creado.
- Exclusión de individuos relacionado al tamaño de poblaciones por analizar. Se realizó un submuestreo aleatorio de individuos en las poblaciones que tenían un mayor tamaño de muestreo para equilibrar el número de individuos por población, asumiendo que el número de individuos muestreado puede influir en la inferencia de estructura poblacional. En este proceso, se obtuvieron 3 submuestras (A, B y C) de las poblaciones con mayor número de individuos de cada especie. En el caso de los búhos, se reduce el tamaño de la muestra de la población de Wyoming, originalmente con un total 73 individuos muestreados, en 3 submuestras de 30 individuos retenido de manera aleatoria (subgrupos A, B y C). Por otro lado, en las poblaciones de Halcones, las poblaciones de mayor tamaño muestral de East Bay (37 individuos originalmente) y Pinnacles (32 individuos originalmente) se redujeron en 3 submuestras (A, B y C) de cada uno de ellos, donde se retuvieron 25 individuos en cada submuestreo aleatorio.

2.4 Análisis Bioestadísticos sobre matrices SNPs

Posteriormente a obtener submuestras de las matrices de SNPs de acuerdo a las distintas condiciones de número de poblaciones y de individuos (Reducción de tamaño poblacional y submuestras A, B y C), se realizaron verificaciones sobre la importación correcta

de matrices en el software R (versión 4.0.5) que provee las herramientas para ejecutar paquetes de análisis estadísticos de código abierto (Paradis, 2005).

Dentro de este apartado, se retomó el postulado de la hipótesis planteada que considera que existen diferentes estructuras poblacionales a los propuestos por los estudios previos de ambas especies. Con este postulado, se replicó el Análisis de Componentes Principales (PCA por sus siglas en inglés) para la reducción de dimensionalidad de las variables con la condición de perder la menor cantidad de información posible (McVean, 2009). Este Análisis de Componentes Principales se llevó a cabo en la plataforma R usando el paquete *adeigenet* 2.1.3 (Jombart, 2008), en ambos sets de datos de las especies de interés y para cada uno de los submuestreos anteriormente mencionados (42 para *Strix nebulosa* y 41 para *Falco mexicanus*). Dentro de las diferencias de los análisis previos se evaluaron los set de datos categorizados y filtrados según el criterio de reagrupación de poblaciones y los sub muestreos de poblaciones de mayor tamaño (A, B y C). Los resultados del PCA fueron graficados usando el paquete *ggplot2* de R (Kassambara, 2013).

2.5 Elaboración de Modelos de Estructura Poblacional

Los subgrupos analizados de ambas especies se sometieron a los análisis discriminantes de componentes principales (DAPC por sus siglas en inglés) los cuales nos permiten tener una inferencia sobre los grupos genéticos existentes, priorizando las diferencias entre los grupos previamente identificados. Para la representación gráfica de la diversidad entre grupos genéticamente relacionados, se utilizó el paquete *adeigenet* en software R (Jombart, 2008).

Luego de identificar los posibles grupos existentes por medio del DAPC, fue necesario identificar los grupos genéticos existentes para la elaboración de las gráficas de estructura poblacional. En este caso se utilizaron algoritmos de agrupamiento conocidos como k-means o valor de k. El valor de k identifica el número idóneo de clústeres existentes en las muestras analizadas, lo cual puede juntar poblaciones previamente identificadas así como separarlas (Evanno et al., 2005; Jombart, 2008; Jombart et al., 2010). Seguido de este análisis, se comparan

los resultados utilizando el criterio de inferencia bayesiana (BIC) para comprobar el número de clústeres óptimo relacionado al valor mínimo de la gráfica obtenida (Jombart et al., 2010; Lee et al., 2009).

Con estos valores obtenidos se utilizó el paquete *adegenet* nuevamente para generar las gráficas de estructura poblacional (mediante la función *compplot*) por medio de observación de los patrones de sus frecuencias alélicas entre grupos (Jombart, 2008; Jombart et al., 2010). Se obtuvieron gráficos de estructuras hipotéticas para ambas especies y todas las agrupaciones y submuestras mencionadas anteriormente. Al mismo tiempo, se incluyeron análisis de correspondencia para evaluar el porcentaje de asignación de los individuos a los clústeres propuestos en la gráficas.

2.6 Heterocigosidad y diferenciación poblacional (Diversidad genética)

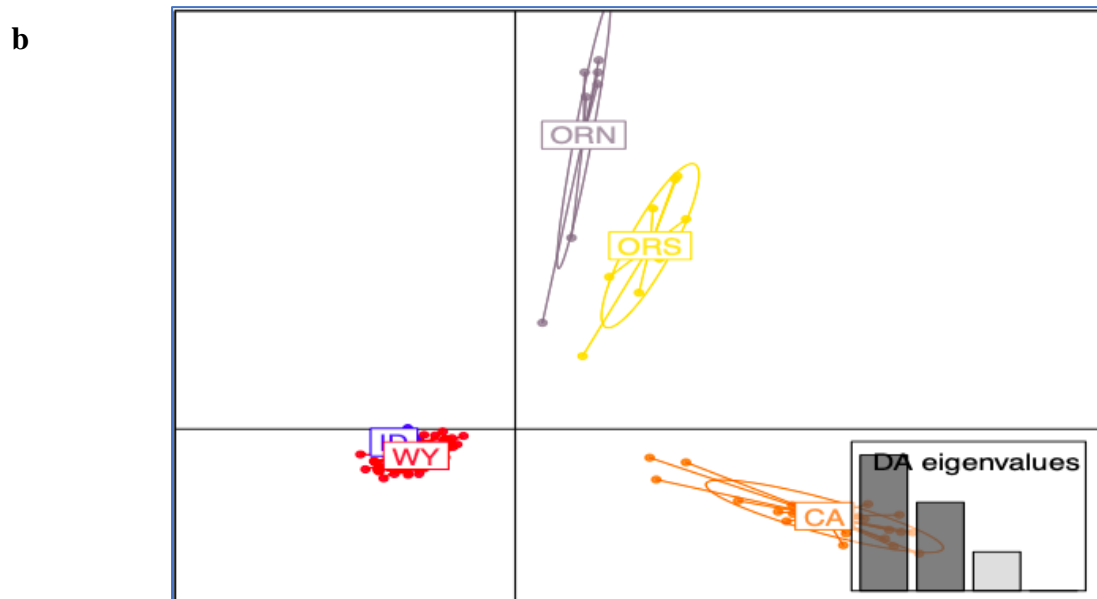
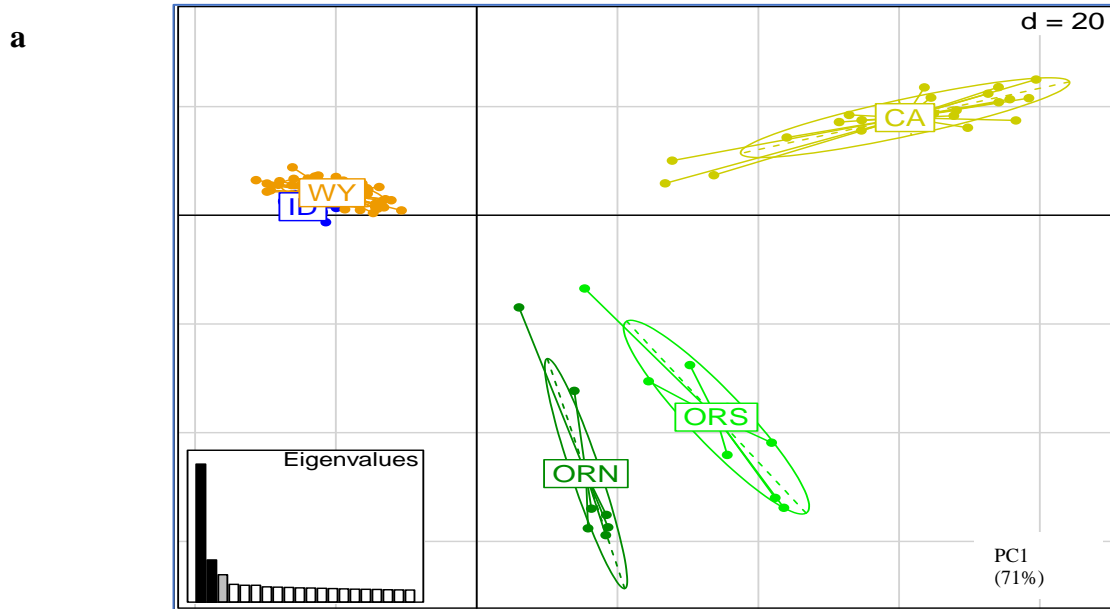
Finalmente, se estimó las distintas características de genómica poblacional, como diversidad genómica (Heterocigosidad esperada y observada), polimorfismo, índices de fijación (F_{st}) y consanguineidad (F_{is}) (Chang et al., 2019), utilizando el paquete de R *hierfstat* 3.5.7 (de Meeûs & Goudet, 2007). Para cada uno de los reanálisis se estimó el efecto de distintas agrupaciones y filtros en medidas genómicas para evaluar las posibles diferencias entre estos junto a los resultados revisados en la bibliografía.

3 Resultados

3.1 Análisis de componentes principales (PCA) de *Strix nebulosa*

A partir de la matriz recuperada de 4817 SNPs de 123 individuos en total, pertenecientes a 5 poblaciones distintas (Wyoming= 73, Idaho=11, California=22, Oregon Norte=8, Oregon Sur=9) se realizaron análisis exploratorios de las poblaciones de búhos (en todos los individuos) y sus respectivos submuestras (A, B y C, con un total de 80 individuos en cada subgrupo, considerando la submuestra de Wyoming a 30 individuos). En estos análisis se obtuvo una representación de estructura de poblacional claramente diferenciadas en cuatro clústeres de

variabilidad genómica. Los clústeres están representados en los primeros 2 ejes de componentes principales, los cuales explicaron entre 70 y 78% de la variabilidad en el PCA (**Figura 2a**).



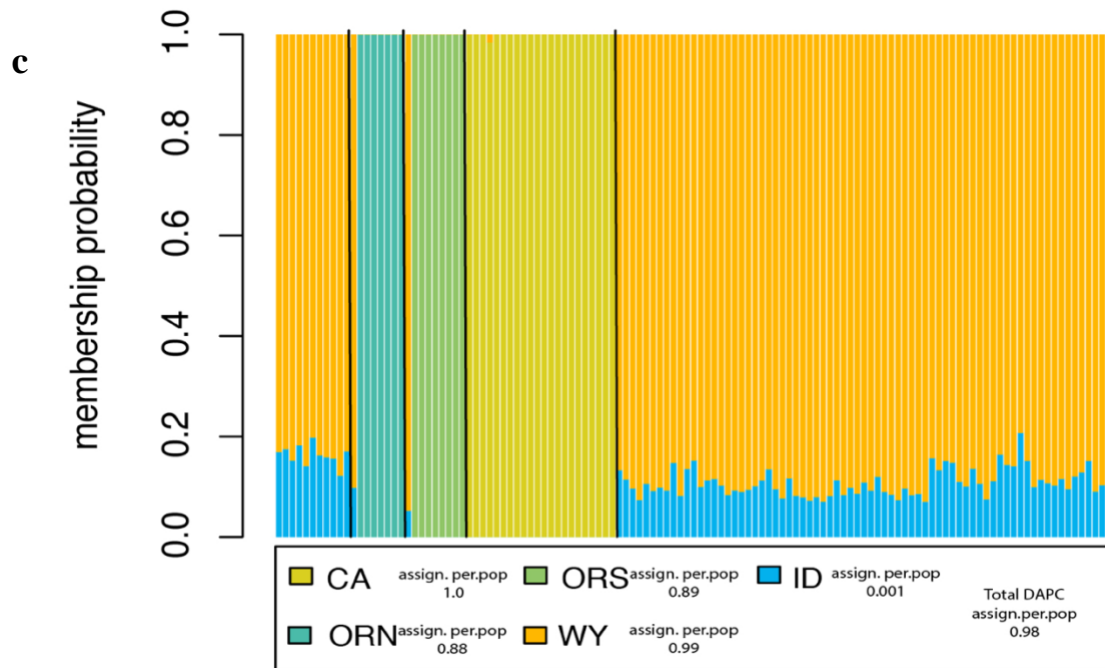


Figura 2. (a) Análisis de componentes principales de las 5 poblaciones de *Strix nebulosa* reanalizadas (Wyoming= 73, Idaho=11, California=22, Oregon Norte=8, Oregon Sur=9). Los dos primeros ejes explican entre 70 a 78% de la variación entre individuos de cada población. En la figura insertada (inset) se observan los valores eigen, o proporción de variabilidad genómica que se encuentra en cada componente principal. Las barras de color negro corresponden a los dos componentes principales que se muestran en la figura. (b) Análisis discriminante de componentes principales (DAPC) de las 5 poblaciones reanalizadas. (Wyoming WY= 73, Idaho ID=11, California CA=22, Oregon Norte ORN=8, Oregon Sur ORS=9). Los dos primeros ejes explican más del 80 y 75% de la variación entre individuos de cada población. (c) Gráfico de estructura poblacional obtenido del reanálisis (*Strix nebulosa*) utilizando el paquete *adegenet*. Cada barra representa un individuo de *Strix nebulosa* de las 5 poblaciones reanalizadas. (Wyoming WY= 73, Idaho ID=11, California CA=22, Oregon Norte ORN=8, Oregon Sur ORS=9). Las poblaciones representadas en la figura están separadas entre ellas con líneas verticales negras. Los valores de asignación por grupo (población) son de 99% en el total de muestras analizadas, siendo la población de Idaho con el valor de asignación más bajo de 0.001%. Este resultado expone la identidad genética de cada una de las poblaciones identificando 4 grupos independientes (California (CA), Oregon Norte (ORN), Oregon Sur (ORS) y Wyoming-Idaho WY-ID).

Se realizaron análisis de componentes principales para todos los submuestreos de poblaciones e individuos de *Strix nebulosa* (realizados entre 5, 4, 3 y 2 poblaciones). Tanto los análisis realizados con la totalidad de poblaciones (5 poblaciones), como los análisis parciales (aislando 4 poblaciones), sugieren la existencia de cuatro clústeres distribuidos independientemente para Oregon Norte, Oregon Sur, California y por último, un clúster compartido con altos niveles de 'admixture' (mezcla) entre la población de Idaho y Wyoming (Anexo 1).

En los resultados obtenidos al submuestrear poblaciones a nivel de 3 y 2 poblaciones y sus submuestreos se observan los mismos patrones de agrupación entre las poblaciones, siendo Idaho y Wyoming muy cercanas entre sí en todas las inferencias. Con estos resultados se puede inferir que existen rasgos compartidos entre ambas poblaciones, representados en los 2 primeros componentes (ejes) los cuales representan entre de 70% a 75% de la variabilidad (Anexo 2).

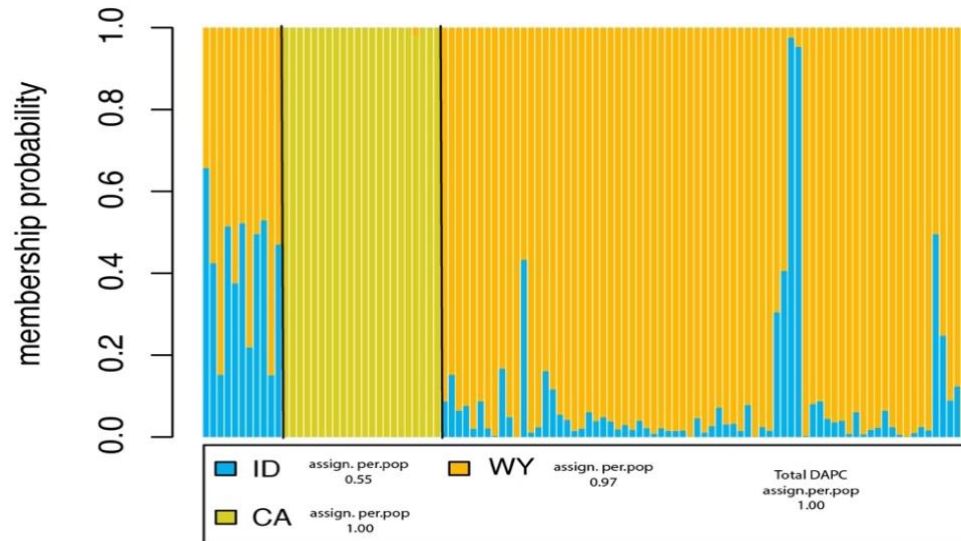
3.2 Análisis Discriminante de Componentes Principales (DAPC) para *Strix nebulosa*

Los resultados de los análisis discriminantes de componentes principales fueron similares a los del PCA, donde la variación entre grupos y dentro de los mismos se mantiene, describiendo 4 grupos o clústeres (2 componentes mayores a 75%) (Figura 2b). Adicionalmente, los valores de asignación o correspondencia de individuos dentro de los grupos variaron (Figura 2c) entre 0,10 a 0,15 (75 a 95%) en los análisis totales y en los distintos submuestreos realizados (5, 4, 3 y 2 poblaciones). El valor ideal de K o número de clústeres obtenido en el análisis fue de 3, respaldado por el criterio de inferencia Bayesiana (BIC) con las 5 poblaciones. Al mismo tiempo, valor de K=3 y K=4 son sugeridos en los análisis de submuestreo de las 5 poblaciones (Anexo 3).

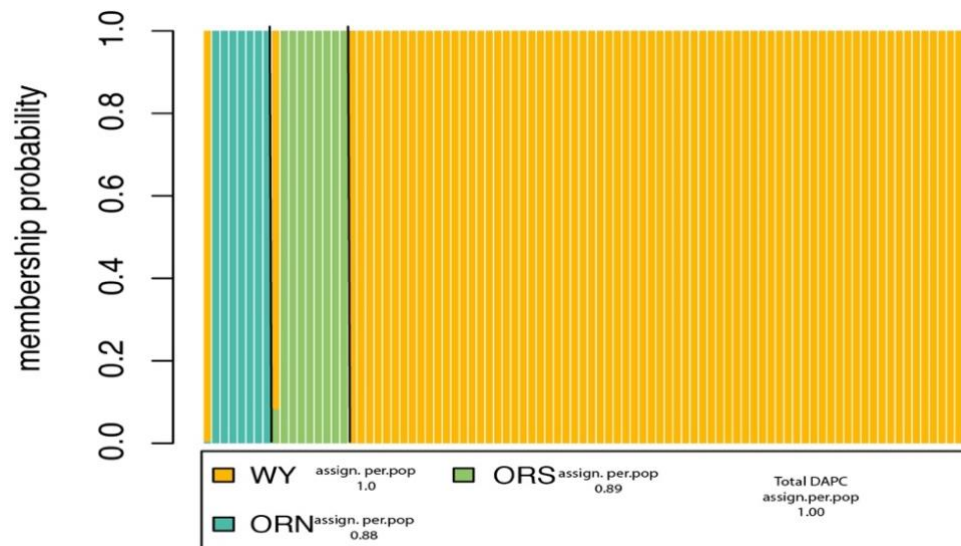
A partir de la correspondencia (probabilidad) de individuos a los grupos planteados, se obtuvieron gráficas de estructura mediante la función compoplot de *adegenet*, donde se observan las estructuras o clústeres de las poblaciones. En estas gráficas están definidos 4 clústeres, uno para cada población exceptuando un clúster compartido por las poblaciones de Idaho y Wyoming, con altos niveles de 'admixture' (mezcla) en casi todos los individuos (Figura

2c). Los resultados del análisis entre 4 poblaciones, mantienen la misma representación de sus grupos genéticos. Las poblaciones de Idaho y Wyoming comparten un grupo genético a comparación del resto de poblaciones que pertenecen a un grupo independiente cada una (Anexo 4).

a



b



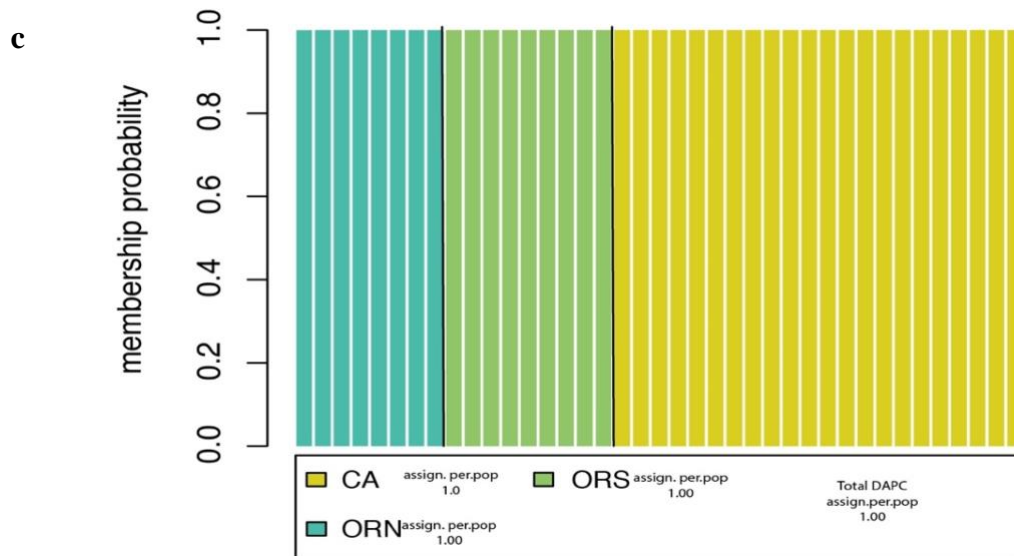


Figura 3. Gráficos de Estructura Poblacional obtenido del reanálisis (*Strix nebulosa*) utilizando el paquete *adegenet*. Cada barra representa un individuo de *Strix nebulosa* en cada análisis de 3 poblaciones (a) excluyendo Oregon Norte y Oregon Sur, (b) excluyendo Idaho y California y (c) Idaho y Wyoming.

En los análisis de 3 poblaciones, casi todas las inferencias grupales se mantienen, aunque se pueden observar ciertos rasgos que difieren a nivel de individuos (Figura 3). Por ejemplo, un individuo de Oregon Norte (ORN) y uno de Oregon Sur (ORS) comparten un porcentaje mayor de 60% de rasgos ('admixture') de la población de Wyoming (WY).

En las gráficas de estructura poblacional entre 2 individuos, las poblaciones de Idaho y Wyoming presentan leves diferencias entre el análisis total de individuos y los submuestreos A, B y C (Figura 4a, 4b y 4c), donde se observan que 6 individuos pertenecientes a la población de Idaho tienen más del 60% de identidad genética de Wyoming. Los resultados de los submuestreos exponen alrededor de 5 individuos con más de 40% de identidad genética (correspondencia genética) en la población de Wyoming, siendo el resto (9 individuos) con un porcentaje menor al 12% de identidad genética de la población de Wyoming. Por otro lado, la población de Wyoming mantiene sus características, exceptuando 3 individuos con rasgos de Idaho (menor a 20%). Para las gráficas que representan las estructuras entre 2 poblaciones (Figura 4), se mantiene esta característica de un individuo de Oregon Norte (ORN) (Figuras 4d, 4e y 4f) y Oregon Sur (ORS) (Figuras 4g, 4h y 4i), con rasgos de la población de Wyoming (60-70%), respectivamente.

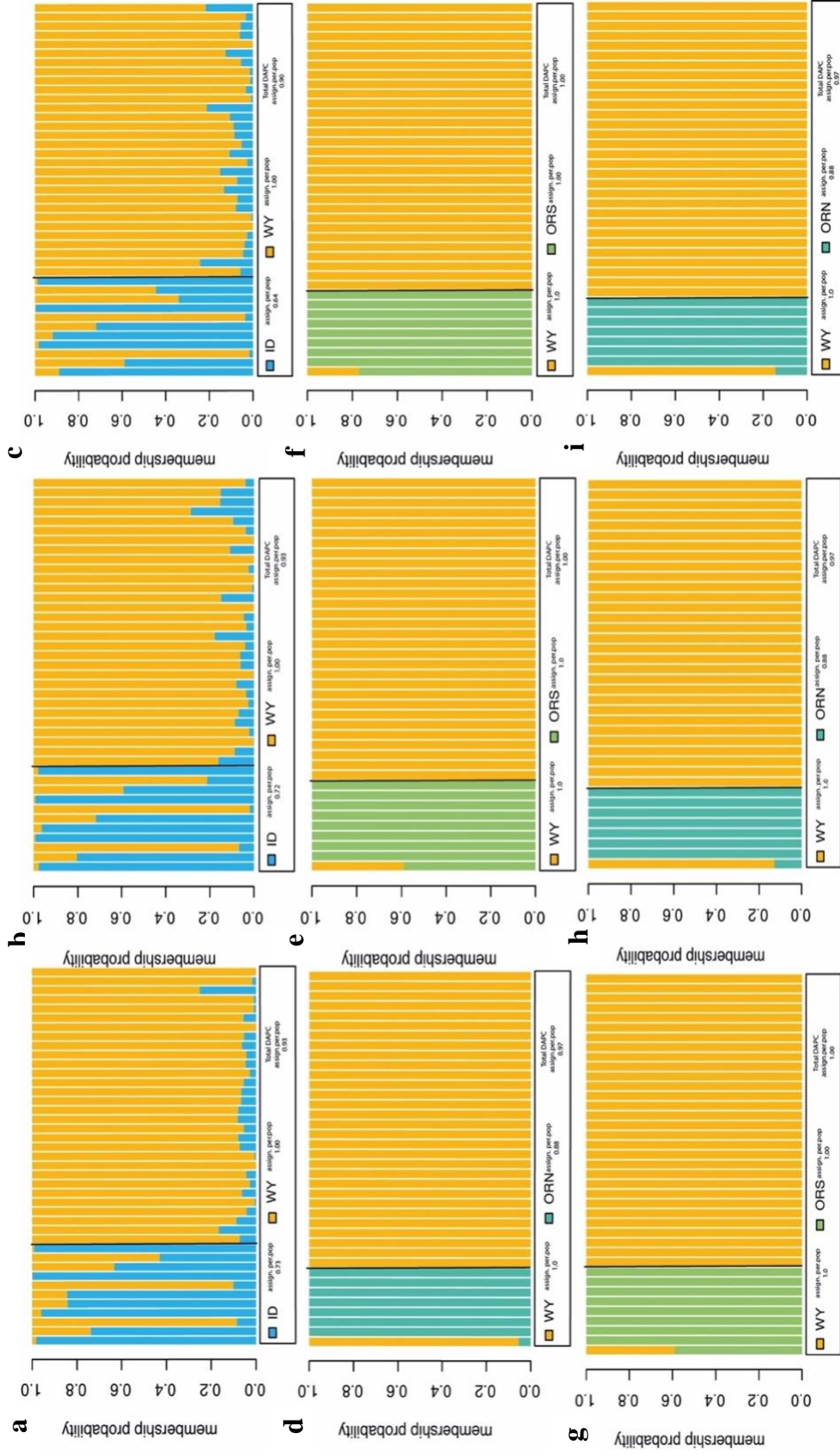


Figura 4. Gráficos de estructura poblacional entre 2 poblaciones de *Strix nebulosa* y sus respectivos submuestros (subgrupos A, B, C) utilizando el paquete *adegenet*. Cada barra representa un individuo de *Strix nebulosa* en los reanálisis de 2 poblaciones, excluyendo en cada caso tres poblaciones: (a, b y c) Submuestro Idaho (ID)-Wyoming (WY); (d, e y f) Submuestro Wyoming (WY)- Oregon Norte (ORN); y (g, h e i) Submuestro Wyoming (WY)- Oregon Sur (ORS).

3.3 Diversidad y divergencia genómica de *Strix nebulosa*

La diferenciación poblacional entre las poblaciones de búhos fue obtenida mediante análisis de Índices de Fijación a nivel general (F_{st}) y entre de poblaciones (pairwise F_{st}). En los resultados obtenidos se puede observar que hay una diferenciación alta entre poblaciones (Tabla 1). Los valores de Índice de fijación generales fluctuaron entre 0.11 y 0.07 en los análisis con las poblaciones totales y sus submuestreos infiriendo aislamiento entre poblaciones. En este análisis se incluyó los índices de consanguinidad general (F_{is} total= -0.18) y de cada una de las poblaciones indicando heterocigocidad alta en las poblaciones (Tabla 1). Los valores negativos revelan a nivel general poblaciones diferenciadas, descritas en las gráficas de estructura poblacional (grupos genéticos distintos)

Tabla 1. Valores de Diversidad Genética de *Strix nebulosa* incluye índices H_o : heterocigocidad dentro de la población; H_s : diversidad genética dentro de la población; H_t : diversidad genética general; F_{st} : índice de fijación; F_{is} : coeficiente de consanguinidad por loci general. Al margen izquierdo se ubican los submuestreos realizados con las poblaciones de interés.

No. de Poblaciones	H_o	H_s	H_t	F_{st}	F_{is}
5 Poblaciones (WY, CA, ID, ORN, ORS)	0.312	0.265	0.297	0.107	-0.177
5 Poblaciones (sub A)	0.312	0.265	0.296	0.107	-0.177
5 Poblaciones (sub B)	0.313	0.266	0.297	0.106	-0.179
5 Poblaciones (sub C)	0.312	0.265	0.297	0.107	-0.175
4 Poblaciones sin CA	0.310	0.266	0.290	0.084	-0.168
4 Poblaciones sin CA (sub A)	0.309	0.265	0.289	0.084	-0.168
4 Poblaciones sin CA (sub B)	0.312	0.266	0.290	0.083	-0.170
4 Poblaciones sin CA (sub C)	0.310	0.266	0.290	0.084	-0.166
3 Poblaciones (ID, WY, CA)	0.307	0.262	0.290	0.096	-0.169

<i>3 Poblaciones (ID, WY, CA) sub A</i>	0.308	0.264	0.291	0.095	-0.169
<i>3 Poblaciones (ID, WY, CA) sub B</i>	0.309	0.263	0.291	0.095	-0.172
<i>3 Poblaciones (ID, WY, CA) sub C</i>	0.306	0.263	0.291	0.096	-0.166
<i>3 Poblaciones (WY,ORN,ORS)</i>	0.312	0.264	0.289	0.085	-0.180
<i>3 Poblaciones (WY,ORN,ORS) sub A</i>	0.311	0.264	0.288	0.086	-0.179
<i>3 Poblaciones (WY,ORN,ORS) sub B</i>	0.314	0.265	0.290	0.084	-0.183
<i>3 Poblaciones (WY,ORN,ORS) sub C</i>	0.312	0.265	0.290	0.085	-0.177
<i>2 Poblaciones (WY-ID)</i>	0.300	0.262	0.263	0.050	-0.147
<i>2 Poblaciones (WY-ID) sub A</i>	0.298	0.261	0.262	0.054	-0.146
<i>2 Poblaciones (WY-ID) sub B</i>	0.303	0.263	0.264	0.047	-0.151
<i>2 Poblaciones (WY-ID) sub C</i>	0.299	0.263	0.264	0.046	-0.156
<i>2 Poblaciones (WY-ORS)</i>	0.311	0.264	0.286	0.078	-0.176
<i>2 Poblaciones (WY-ORS) sub A</i>	0.309	0.263	0.285	0.078	-0.175
<i>2 Poblaciones (WY-ORN)</i>	0.305	0.260	0.279	0.068	-0.174
<i>2 Poblaciones (WY-ORN) sub A</i>	0.304	0.259	0.278	0.068	-0.173

El índice de fijación por pares (pairwise Fst) varía entre poblaciones, siendo 0.19 el valor más alto entre la población de California con Idaho y Wyoming, respectivamente (Tabla 2). En este mismo análisis de índices de fijación por pares (pairwise Fst) los valores inferiores fueron de 0.01 entre la población de Idaho y Wyoming y 0.09 entre Oregon Norte y Oregon Sur, siendo California la población con mayor diferenciación con el resto de poblaciones estudiadas (Tabla 2).

Tabla 2. Índices de Fijación en pares *Strix nebulosa* para el análisis de las 5 poblaciones (Idaho ID, Oregon Norte ORN, Oregon Sur ORS, California CA y Wyoming WY).

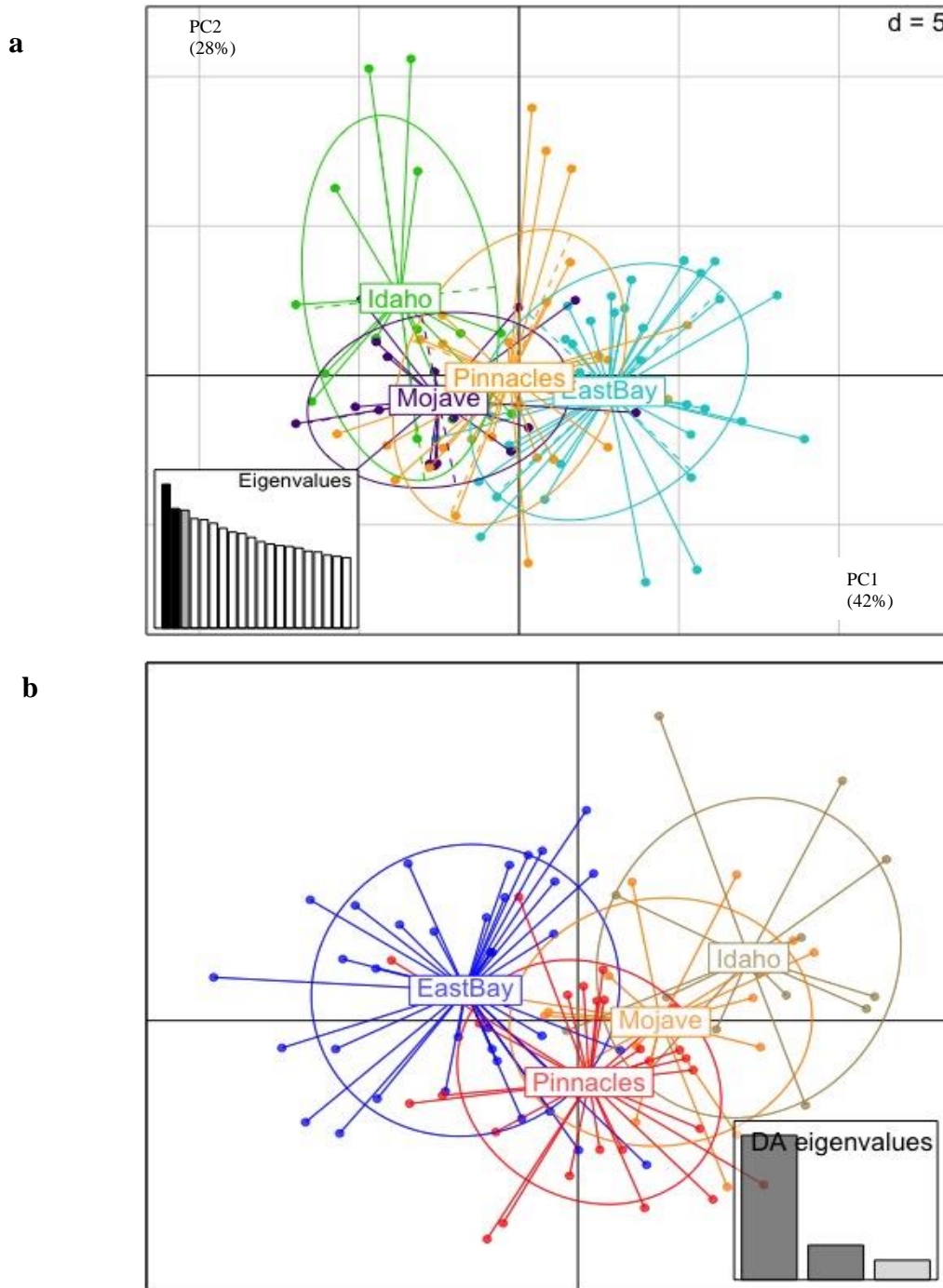
Fst pairwise	ID	ORN	ORS	CA	WY
ID	NA	0.120	0.139	0.189	0.011
ORN	0.120	NA	0.096	0.152	0.129
ORS	0.139	0.096	NA	0.107	0.149
CA	0.189	0.152	0.107	NA	0.192
WY	0.011	0.129	0.149	0.192	NA

La heterocigosidad observada y esperada para los análisis de las poblaciones, subgrupos y en los submuestreos fluctuó entre 0.31 y 0.265 respectivamente. Estos resultados no variaron entre análisis, siendo un cambio aproximado de 0.002 a 0.001. La inferencia no cambia en los análisis de submuestreo, sin embargo, se observan cambios a nivel de individuos. Los resultados de heterocigosidad esperada (H_e) entre poblaciones en cada análisis a nivel de submuestreos y con exclusión de poblaciones se mantiene con valores no mayores a 0.26 (ID = 0.258, ORN = 0.249, ORS = 0.259, CA = 0.259, WY = 0,253). Los valores sugieren una baja variabilidad genética entre poblaciones, infiriendo una diversidad alélica baja, similar en las 5 poblaciones.

3.4 Análisis de componentes principales (PCA) de Falco mexicanus

Los resultados obtenidos por los análisis de componentes principales con los 100 individuos utilizados pertenecientes a las 4 poblaciones estudiadas (East Bay EB = 37, Idaho ID=14, Pinnacles PS = 32, Mojave MJ = 17) indican en la Figura 6 un solapamiento de los grupos, en donde las cuatro poblaciones estudiadas tienen bajos niveles de diferenciación genética. La representación de los datos está mostrada en 2 ejes de componentes principales, con un 70% de la variación acumulada. Existen leves diferenciaciones en las elipses de las poblaciones de los extremos, como lo son Idaho y East Bay, las cuales tienen un menor solapamiento de diversidad genómica. En contraste poblaciones de Mojave y Pinnacles tienen un alto solapamiento y muy poca diferenciación en la diversidad genómica (Figura 5a). Asimismo, en el gráfico general de resultados (Figura 5a) existen leves diferencias en las poblaciones de los extremos (mayor distancia entre ellas) como es Idaho y East Bay, de las

cuales se ven reflejados en las distancias de sus elipses, sugiriendo una diferenciación moderada. Para el resto de poblaciones como Mojave y Pinnacles se comparte una mayor proporción de características, manteniendo una identidad genética mayor que el resto de poblaciones.



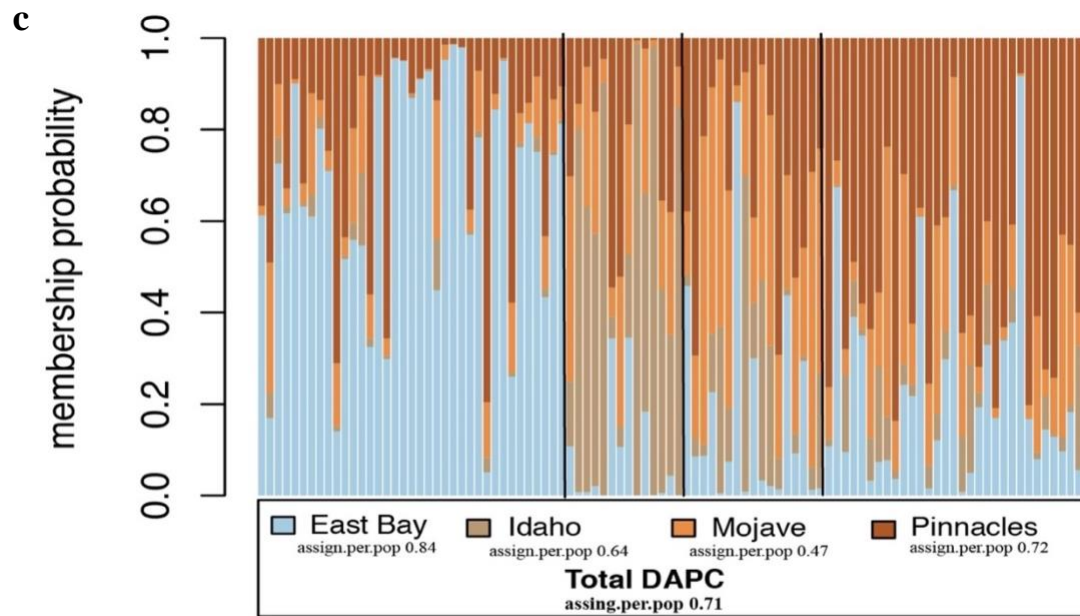


Figura 5. (a) Análisis de componentes principales de las 4 poblaciones reanalizadas de *Falco mexicanus* a (East Bay EB= 37, Idaho ID=14, Pinnacles PS=32, Mojave MJ=17). Los dos primeros ejes explican más del 65 y 70 % de la variación entre individuos de cada población. (b) Análisis Discriminante de componentes principales de las 4 poblaciones reanalizadas de *Falco mexicanus* a (East Bay EB= 37, Idaho ID=14, Pinnacles PS=32, Mojave MJ=17). Los dos primeros ejes explican más del 70 % de la variación entre individuos de cada población. (c) Gráfico de Estructura Poblacional obtenido del reanálisis (*Falco mexicanus*) utilizando el paquete *adegenet*. Cada barra representa un individuo de *Falco mexicanus* de las 4 poblaciones reanalizadas. (East Bay EB= 37, Idaho ID=14, Pinnacles PS=32, Mojave MJ=17). Cada color representa una población separado de las demás con líneas verticales negras. Los valores de asignación por grupo (población) son de 70%. No se presenta una identidad genética para cada una de las poblaciones identificando sólo un grupo independiente.

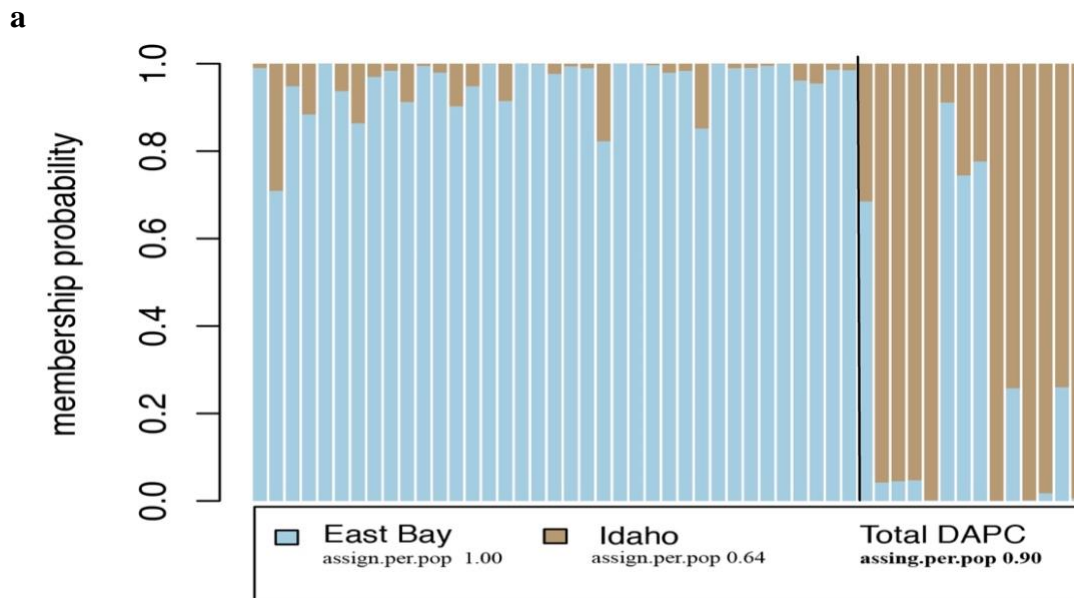
3.5 Análisis Discriminante de Componentes Principales (DAPC) para *Falco mexicanus*

Para los análisis discriminantes de componentes principales (DAPC) se muestran resultados similares a los análisis de componentes principales, un total de poblaciones (East Bay, Idaho, Pinnacles y Mojave) y para los distintos submuestreos realizados. Para los submuestreos de poblaciones usando 4 poblaciones, se observa un solo clúster donde se encuentran los 4 grupos (Figura 5b). Asimismo, los resultados de los submuestreos A, B y C

presentan un leve distanciamiento entre las poblaciones de Idaho y East Bay. Ambos grupos describen un desplazamiento y solapamiento mínimo de sus elipses, proponiendo diferencias en ambas poblaciones (Anexo 5).

Con los resultados de (DAPC) se obtuvieron representaciones gráficas de estas inferencias incluyendo valores de correspondencia en cada análisis con la función *compplot* de *adegenet* (Figura 5c). El valor de K obtenido en las gráficas de criterio de inferencia Bayesiana (BIC) fue 1 para las 4 poblaciones y sus submuestreos por poblaciones, indicando la presencia de un solo clúster. En las representaciones gráficas de todos los análisis discriminantes (DAPC) no se observan diferencias para cada sub muestreo evaluado entre 3 y 2 poblaciones (Anexo 6).

Las gráficas de DAPC en los submuestreo de 2 poblaciones se mantienen patrones similares en la mayoría de las poblaciones exceptuando East Bay. La población de East Bay presenta una diferenciación genética moderada a alta en los análisis con Idaho y Mojave con una asignación por población total entre 0.89 a 0.90 respectivamente (Figuras 6a y 6 b).



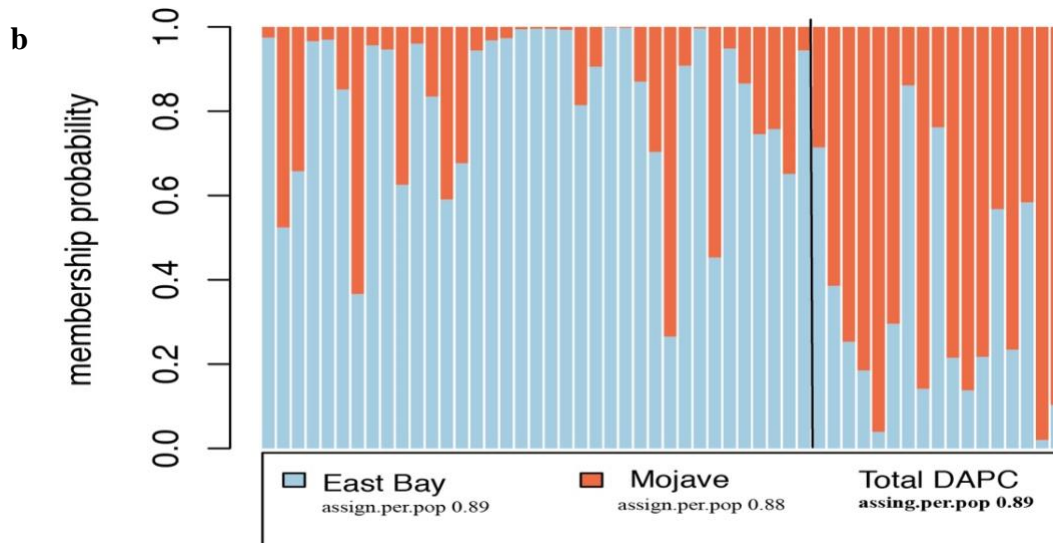


Figura 6. Gráfico de Estructura Poblacional obtenido del reanálisis (*Falco mexicanus*) utilizando el paquete *adegenet*. Cada barra representa un individuo de *Falco mexicanus* en cada análisis de 2 poblaciones, excluyendo en cada caso dos poblaciones: (a) Submuestra East Bay (37 individuos) con Idaho (14 individuos) y (b) Submuestra East Bay (37 individuos) con Mojave (17 individuos) Cada color representa una población separado de las demás con líneas verticales negras. Los valores de asignación por grupo (población) fluctúa entre el 89% a 90%.

Los análisis discriminantes de componente principales en los submuestreos de poblaciones (East Bay= 25, Idaho=14, Mojave=17 y Pinnacles=25), indican un valor de $K=1$ en cada uno de ellos (No hay estructuras independientes). Por otro lado, en las gráficas de DPCA se puede observar una leve diferencia (distancia) entre las poblaciones de halcones entre Idaho y East Bay, tanto en el análisis general de las 4 poblaciones y sus submuestreos A, B y C (Figura 7a, 7b, 7c) Los valores de correspondencia obtenidos para las 4 poblaciones son de 0.71, siendo East Bay y Pinnacles con valores individuales mayores de 0.70, seguidos de Idaho con 0,61 y Mojave 0,47. Añadiendo a los resultados, los valores (porcentajes) en los análisis de los submuestreos disminuyeron entre 0.60 a 0.69 en cada submuestreo.

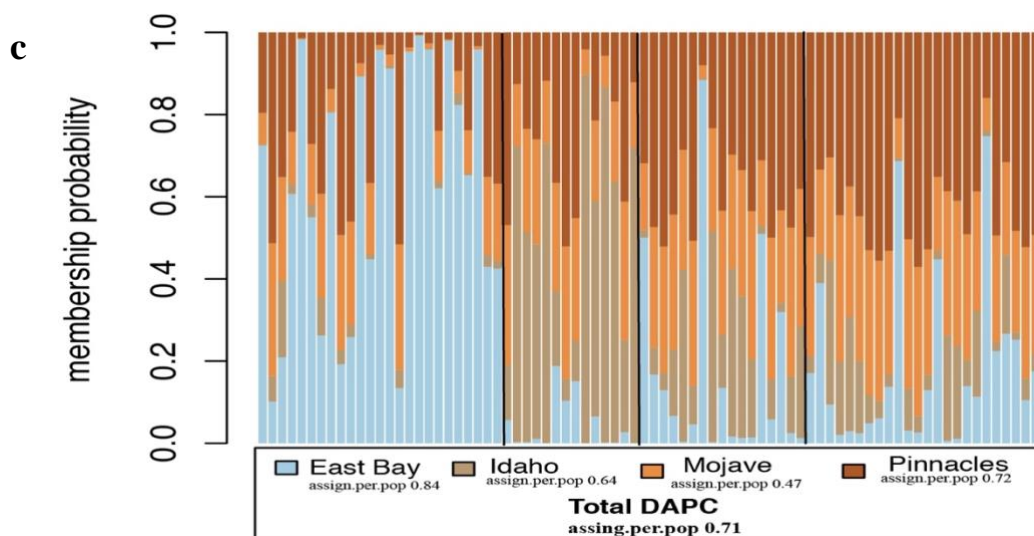
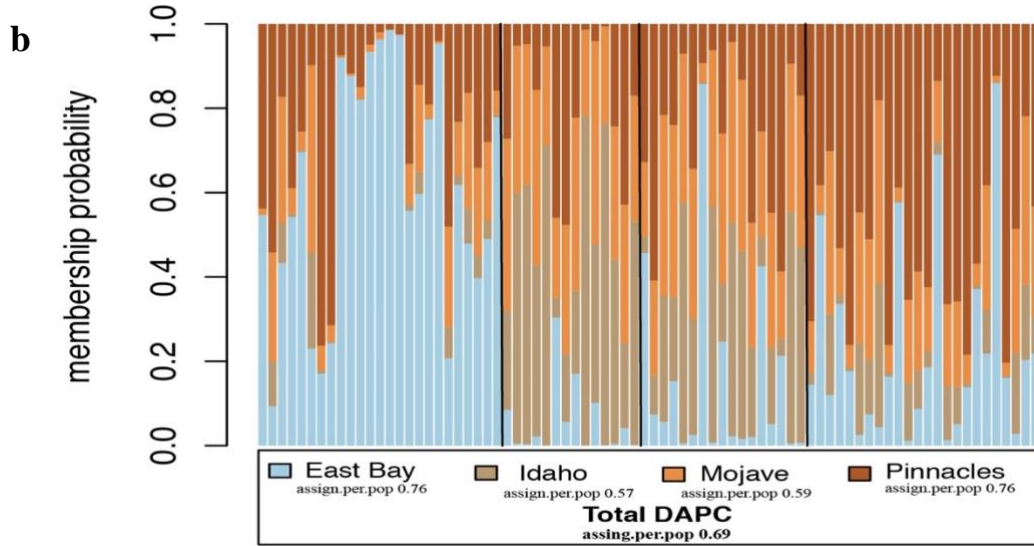
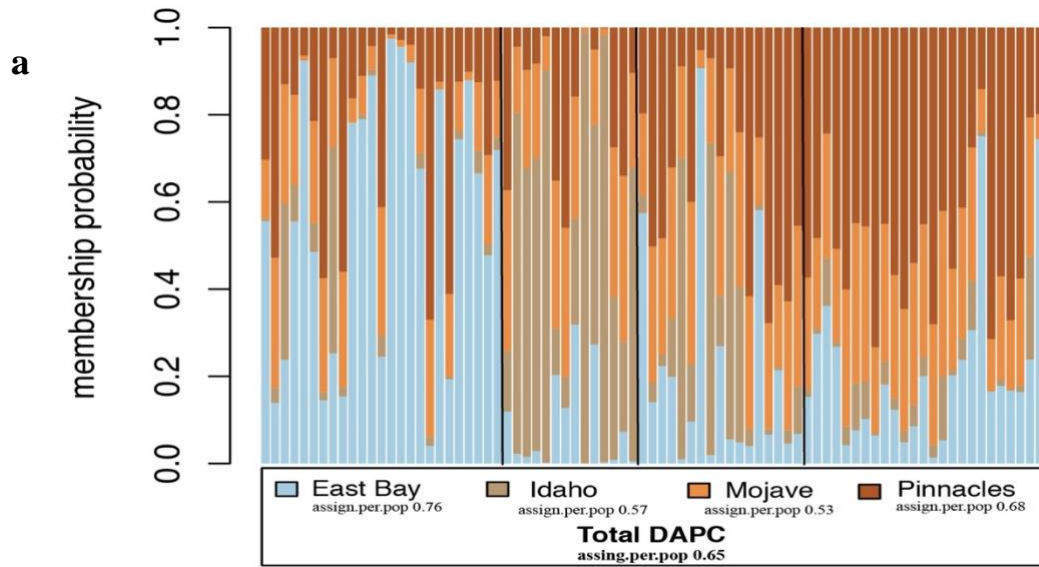


Figura 7. Gráficos de Estructura Poblacional obtenido del reanálisis de (*Falco mexicanus*) en 4 poblaciones y sus submuestras: (a) subgrupo A, (b) Subgrupo B y (c) Subgrupo C. Cada barra representa un individuo de *Falco mexicanus* de las 4 poblaciones reanalizadas en subgrupos A, B y C con submuestras aleatorias de East Bay y Pinnacles (East Bay EB= 25, Idaho ID=14, Pinnacles PS=25, Mojave MJ=17). Cada color representa una población separado de las demás con líneas verticales negras. Los valores de asignación por población para las submuestras A, B y C son 65%, 69% y 71% respectivamente. No se presenta una identidad genética para cada una de las poblaciones identificando sólo un grupo independiente.

En los análisis entre 3 poblaciones y sus submuestras (A, B y C), se pueden observar una leve diferenciación en la identidad genética de la población de East Bay, Idaho, seguido de Pinnacles y Mojave. La población de Mojave posee características (identidad genética) del resto de poblaciones en mayor proporción para cada individuo (Anexo 7). A nivel de individuos, East Bay posee menor cantidad de individuos con identidad genética de otras poblaciones. Aproximadamente 6 individuos pertenecientes a la población de East Bay poseen una identidad genética entre 40 a 80% de otras poblaciones, seguido de Idaho, Pinnacles y Mojave que posee mayor grado de admixture (mezcla).

En las gráficas de estructura poblacional entre 2 poblaciones se observa una diferencia más visible entre grupos, siendo los submuestras (A, B y C) entre Idaho-East Bay con identidad genética más diferenciada (Figuras 8a, 8b y 8c), seguido de los submuestras entre East Bay-Mojave (Figuras 8d, 8e y 8f), específicamente entre individuos. La población de East Bay tiene alrededor de 10 individuos con un porcentaje mayor del 15% de identidad genética de Idaho, a diferencia de los análisis con otras poblaciones que expresan más mezcla (admixture) entre individuos de estas poblaciones. Agregado a los resultados, los valores de K para los muestreos de 2 poblaciones, específicamente East Bay-Idaho, fueron entre 1 y 2 grupos con una diferencia en estos valores menor a 0.50 en la gráfica de BIC (Anexo 8 y 9). Estos valores difieren con los submuestras entre 4 y 3 poblaciones que mantienen un valor de K=1, sugiriendo una posible sensibilidad estadística en los datos por el tamaño de las muestras.

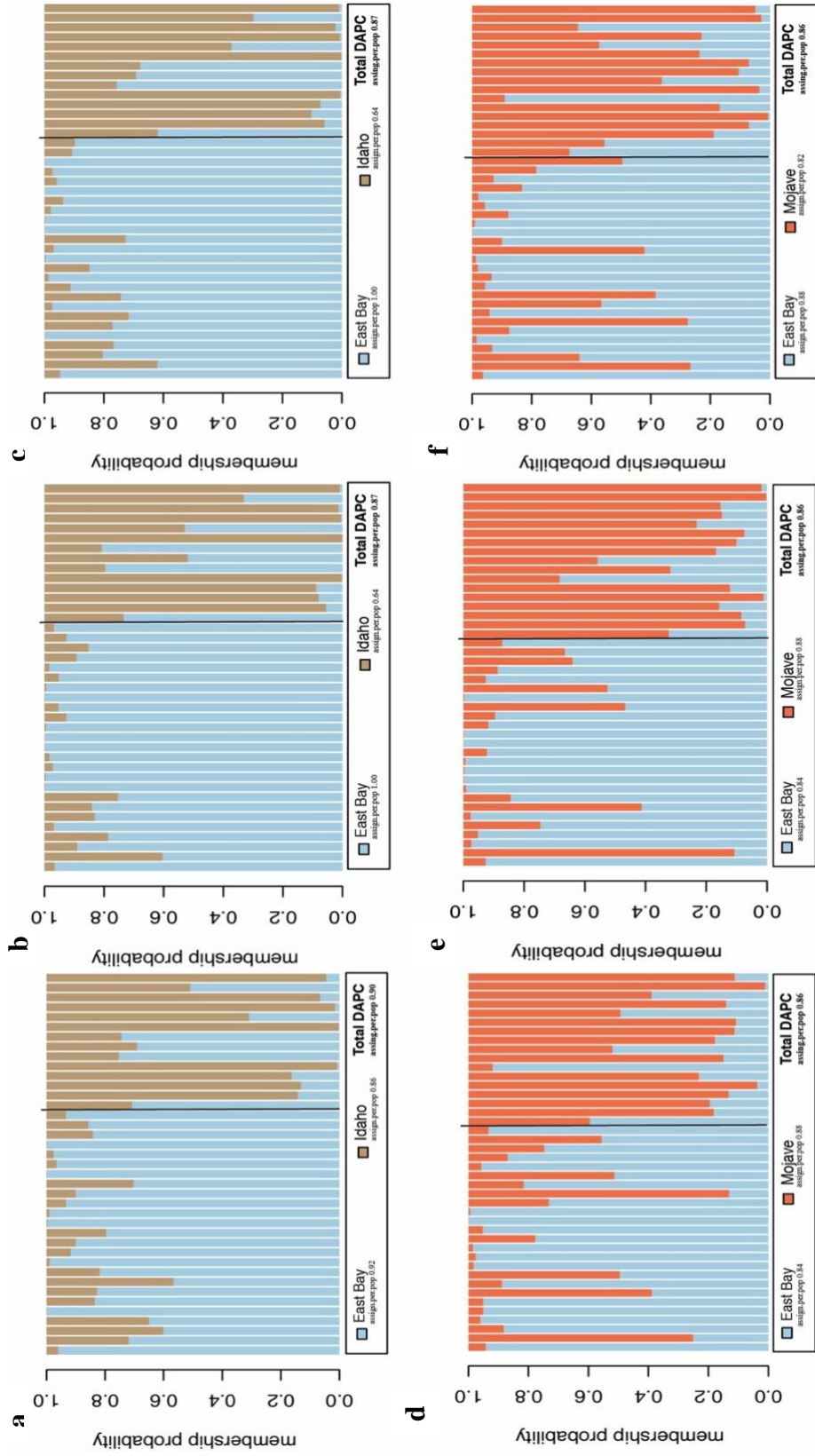


Figura 8. Gráficos de estructura poblacional obtenido del reanálisis (*Falco mexicanus*) entre 2 poblaciones re-analizadas y sus submuestros (Subgrupos A, B y C) excluyendo en cada caso dos poblaciones: (a, b y c) Subgrupos A, B y C del submuestro East Bay- Idaho; (e,f y g) Subgrupos A, B y C del submuestro East Bay- Mojave. Cada barra representa un individuo de *Falco mexicanus* de las poblaciones re-analizadas en subgrupos A, B y C, resultantes del submuestro aleatorio de individuos de East Bay y Pinnacles (East Bay EB= 25, Idaho ID=14, Pinnacles PS=25, Mojave MJ=17). Cada color representa una población separado de las demás con barras verticales negras.

3.6 Diversidad y divergencia genómica de *Falco mexicanus*

Los resultados de la diferenciación entre poblaciones obtenidos con los índices de Fijación global (F_{st}) y entre pares de poblaciones (pairwise F_{st}) no presentaron diferencias significativas en cada uno de los submuestreos realizados (Tabla 3). Los resultados obtenidos a nivel global se mantuvieron en 0.36, mientras el índice de fijación entre poblaciones (F_{st} pairwise) fueron mayores entre Idaho y East Bay con 0.05 y los de menor magnitud estuvieron entre Idaho y Mojave (0.024) (Tabla 4). En ambos casos, se infiere una diferenciación poblacional baja entre poblaciones. Por otro lado, el coeficiente de consanguinidad (F_{is}) se mantiene en cada uno de los análisis entre 0.0251 a 0.0350. Estos valores indican una tasa baja de endogamia, considerando poblaciones con alta representación de heterocigocidad entre individuos (baja proporción en el parentesco entre individuos).

Tabla 3. Valores de diversidad genética de *Falco mexicanus* incluye índices H_o : heterocigocidad dentro de la población; H_s : diversidad genética dentro de la población; H_t : diversidad genética general; F_{st} : índice de fijación; F_{is} : coeficiente de consanguinidad por loci general;. Al margen izquierdo se ubican los submuestreos realizados con las poblaciones de interés East Bay, Idaho, Pinnacles y Mojave.

<i>No. de Poblaciones</i>	<i>H_o</i>	<i>H_s</i>	<i>H_t</i>	<i>F_{st}</i>	<i>F_{is}</i>
<i>4 Poblaciones</i>	0.333	0.340	0.350	0.027	0.021
<i>4 Poblaciones (sub A)</i>	0.333	0.341	0.350	0.027	0.023
<i>4 Poblaciones (sub B)</i>	0.332	0.341	0.350	0.027	0.025
<i>4 Poblaciones (sub C)</i>	0.337	0.342	0.351	0.027	0.013
<i>3 Poblaciones sin Mojave</i>	0.331	0.339	0.349	0.028	0.024
<i>3 Poblaciones sin Mojave (sub A)</i>	0.331	0.340	0.350	0.028	0.027
<i>3 Poblaciones sin Mojave (sub B)</i>	0.330	0.340	0.349	0.027	0.029

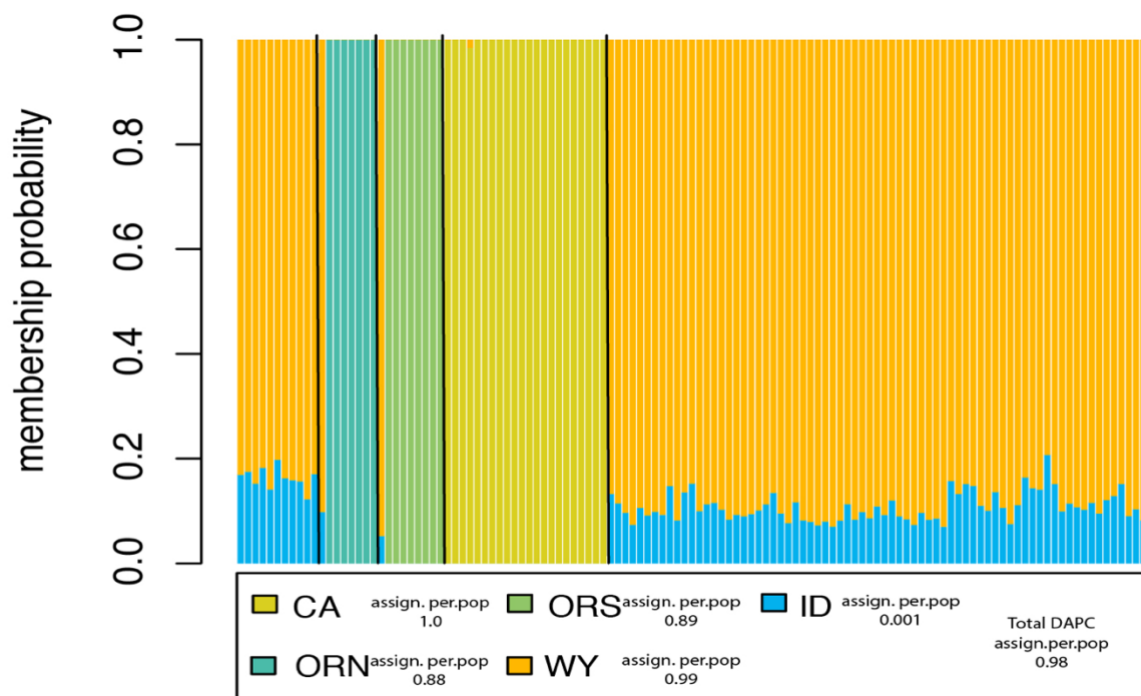
<i>3 Poblaciones sin Mojave (sub C)</i>	0.337	0.341	0.351	0.028	0.013
<i>3 Poblaciones sin Pinnacles</i>	0.335	0.341	0.350	0.026	0.018
<i>3 Poblaciones sin Pinnacles (sub A)</i>	0.335	0.342	0.351	0.025	0.022
<i>3 Poblaciones sin Pinnacles (sub B)</i>	0.333	0.341	0.350	0.026	0.023
<i>3 Poblaciones sin Pinnacles (sub C)</i>	0.336	0.342	0.351	0.026	0.018
<i>2 Poblaciones East Bay- Idaho</i>	0.333	0.341	0.350	0.026	0.022
<i>2 Poblaciones East Bay- Idaho (sub A)</i>	0.332	0.341	0.350	0.026	0.026
<i>2 Poblaciones East Bay- Idaho (sub B)</i>	0.330	0.340	0.349	0.026	0.028
<i>2 Poblaciones East Bay- Idaho (sub C)</i>	0.334	0.342	0.351	0.027	0.021
<i>2 Poblaciones East Bay- Pinnacles</i>	0.324	0.334	0.339	0.016	0.029
<i>2 Poblaciones East Bay- Pinnacles (sub A)</i>	0.324	0.335	0.341	0.016	0.033
<i>2 Poblaciones East Bay- Pinnacles (sub B)</i>	0.322	0.335	0.340	0.017	0.038
<i>2 Poblaciones East Bay- Pinnacles (sub C)</i>	0.332	0.337	0.343	0.018	0.013
<i>2 Poblaciones Pinnacles- Idaho</i>	0.336	0.344	0.351	0.021	0.021
<i>2 Poblaciones Pinnacles- Idaho (sub A)</i>	0.337	0.344	0.351	0.021	0.020
<i>2 Poblaciones Pinnacles- Idaho (sub B)</i>	0.337	0.345	0.352	0.020	0.023
<i>2 Poblaciones Pinnacles- Idaho (sub C)</i>	0.343	0.345	0.352	0.019	0.006

Tabla 4. Índices de fijación por pares (F_{st} pairwise) en pares *Falco mexicanus* para el análisis de las 4 poblaciones: East Bay, Idaho, Pinnacles y Mojave.

Fst pairwise	E. Bay	Pinnacles	Mojave	Idaho
E. Bay	NA	0.032	0.039	0.051
Pinnacles	0.032	NA	0.028	0.041
Mojave	0.039	0.028	NA	0.024
Idaho	0.051	0.041	0.024	NA

La heterocigocidad observada entre las poblaciones obtenida fue de 0.333 y la heterocigocidad esperada de 0.34 interpretándose como una posible baja diferenciación entre poblaciones (Tabla 3 y Anexo 7) Asimismo, la heterocigocidad esperada entre poblaciones (H_e) se mantienen entre los todos los análisis realizados a los submuestreos de las poblaciones (East Bay= 0.33, Idaho= 0.34, Pinnacles= 0.33, Mojave= 0.33) sugiriendo una diversidad alélica moderada a alta entre ellos.

a



b

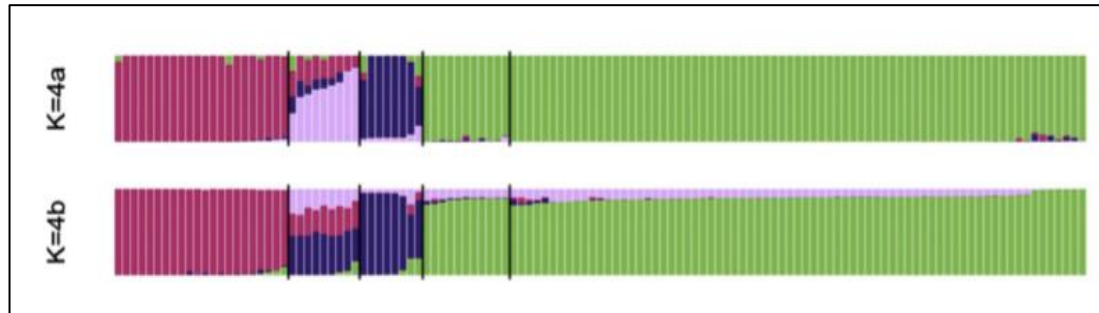
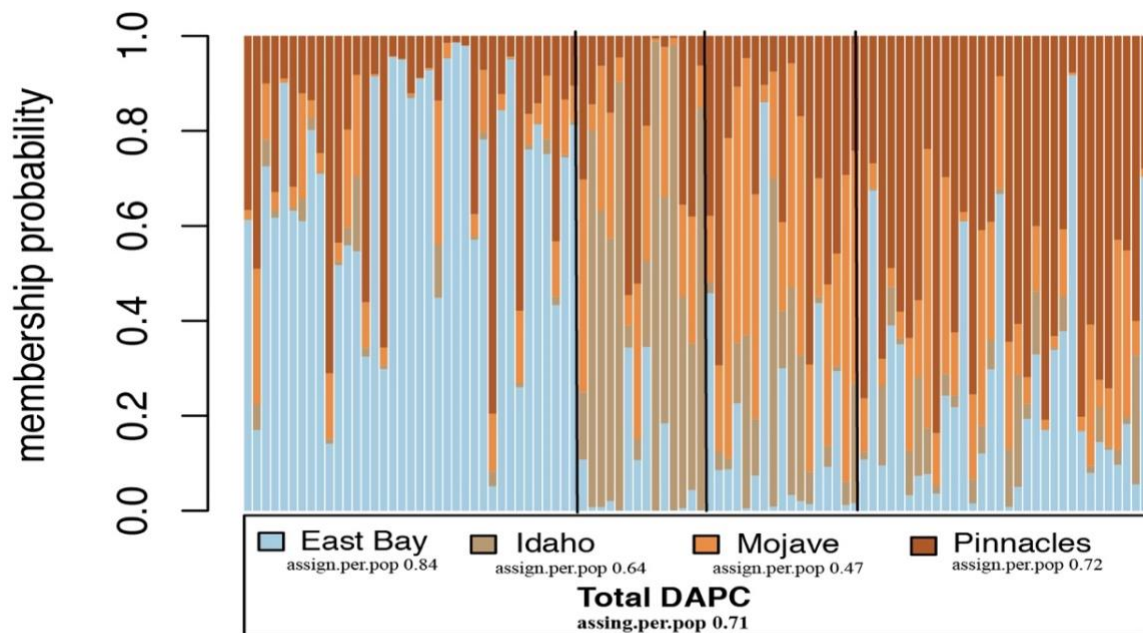


Figura 9. Estructura poblacional y proporción de ‘admixture’ de (a) El reanálisis de los datos usando el total de las muestras y mediante la representación gráfica del DAPC de las 5 poblaciones (Wyoming WY= 73, Idaho ID=11, California CA=22, Oregon Norte ORN=8, Oregon Sur ORS=9); y (b) Gráfica de Estructura poblacional previamente publicada por Mendelsohn, et al. 2020 “Population genomic diversity and structure at the discontinuous southern range of the Great Gray Owl in North America” , donde se realizan los análisis con el total de muestras de las 5 poblaciones poblaciones (Wyoming WY= 73, Idaho ID=11, California CA=22, Oregon Norte ORN=8, Oregon Sur ORS=9) con valores de K=4 (menor y mayor iteraciones), K=3 y K=2 respectivamente. Cada barra representa un individuo de *Strix nebulosa* de las 5 poblaciones re-analizadas separadas entre estas por de líneas verticales negras.

a



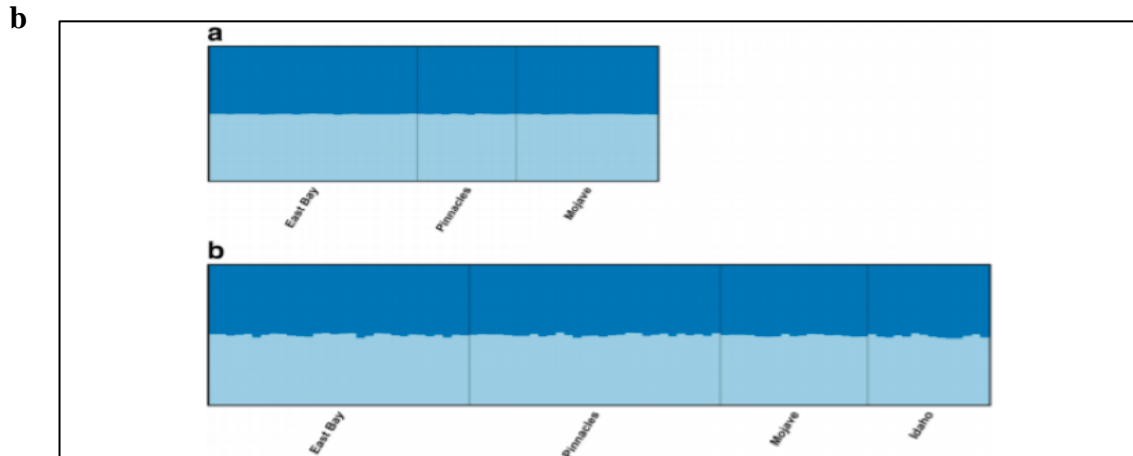


Figura 10. Estructura poblacional y proporción de ‘admixture’ de (a) El reanálisis de los datos usando el total de las muestras y mediante la representación gráfica del DAPC de las 4 poblaciones reanalizadas de *Falco mexicanus* (East Bay EB= 37, Idaho ID=14, Pinnacles PS=32, Mojave MJ=17); y (b) Gráfica de Estructura poblacional previamente publicada por Doyle, et al. 2018 “New insights into the phylogenetics and population structure of the prairie falcon (*Falco mexicanus*)”, donde se realizan los análisis con el total de muestras de las 4 poblaciones (East Bay EB= 37, Idaho ID=14, Pinnacles PS=32, Mojave MJ=17). Cada barra representa un individuo con su respectivo color para diferenciar poblaciones. Las poblaciones representadas en la figura están separadas entre ellas con líneas verticales negras.). La figura 12 b se divide en 2 análisis: a. Excluyendo la población de Idaho y b. Considerando el total de poblaciones muestreadas. Se separan las poblaciones con líneas de color negro entre estas.

4 Discusión

En el reanálisis de estructura poblacional en ambas poblaciones (*Strix nebulosa* y *Falco mexicanus*) se demuestra la susceptibilidad bioestadística en los métodos aplicados a las matrices de SNPs. Dentro de estos métodos se encuentran las condiciones de submuestreo realizadas como la exclusión de poblaciones y de número de individuos. Al mismo tiempo, se corrobora en la mayoría de resultados de los análisis del total de poblaciones similitudes con los obtenidos en las publicaciones de referencia (Doyle et al., 2018; Mendelsohn et al., 2020). El nivel de susceptibilidad observado en ambos reanálisis es de diferente magnitud, donde las condiciones de submuestreo (por poblaciones e individuos) representan con diferente resolución las identidades genéticas de las poblaciones estudiadas. La susceptibilidad de los datos en los

reanálisis ha sido propuestos en estudios de Kalinowski (2011), en los cuales el tamaño de muestra es un componente relevante al realizar los análisis bioestadísticos descriptivos. La representación de las estructuras poblacionales sobre las identidades genéticas obtenidas presentan otras perspectivas del estado de las poblaciones muestreadas. Estas nuevas características no registradas son relevantes para la evaluación de las poblaciones con incertidumbre en su estado de vulnerabilidad.

4.1 Estructura Poblacional de *Strix nebulosa*

Al analizar la estructura poblacional mediante PCA y DAPC, se encontraron cuatro poblaciones altamente definidas, California, Oregon Norte, Oregon Sur y Wyoming-Idaho, estas dos últimas con un solapamiento parcial en sus poblaciones. Estos resultados corroboran los resultados de PCA del estudio de referencia que describen 4 grupos genéticos diferenciados. La representación de la estructura poblacional de *Strix nebulosa* reanalizado coincide de modo general con lo obtenido en el estudio previo de Mendelsohn et. al. (2020), confirmando la influencia del aislamiento geográfico en la región y poblaciones analizadas (Eckert et al., 2008). Este aislamiento, confirma que no existe una población con flujo genético y, por ende, no existe una población panmítica en el rango de distribución analizado.

Al realizar el análisis de determinación de clústeres genéticos mediante el DAPC, se obtuvo un valor idóneo de $K=3$, siendo los grupos: California, Oregon Norte/Oregon Sur y Wyoming/Idaho. Mencionado resultado es similar al obtenido previamente mediante el software STRUCTURE realizados por Mendelsohn y colaboradores (2020). Coincidiendo con el valor de $K=3$ del análisis de referencia, Mendelsohn et. al. (2020) identifican la sub estructura de las poblaciones de Oregon Norte y Oregon Sur sugiriendo 4 grupos genéticos en las 5 poblaciones muestreadas (Figuras 9a y 9b). Debido al enmascaramiento de las estructuras, Mendelsohn realizó un análisis jerárquico sugiriendo en total 4 grupos genéticos. La identificación de los clústeres o grupos genéticos utilizando el valor de K presentan ruido estadístico debido a la influencia de la diferencia del tamaño de las muestras de las poblaciones analizadas (Wang, 2016). Esto indica que la determinación de número de grupos genéticos en los análisis de

estructura poblacional pueden estar relacionados directamente al tamaño de la muestra, presentando un número erróneo de grupos genéticos existentes (Figuras 9a, 9b).

El uso de submuestreos mejoró la resolución de la estructura poblacional de las poblaciones de búhos reanalizadas. Los submuestreos de poblaciones identificaron cuatro grupos genéticos (clúteres) que fueron previamente propuestos por el estudio de referencia (California, Oregon Norte, Oregon Sur y Wyoming-Idaho) (Mendelsohn et al., 2020). La resolución que aporta estos resultados realizados corrobora la identidad genética independiente de Oregon Norte y Oregon Sur con las demás poblaciones. Al mismo tiempo, en estos resultados se respaldan con valores de correspondencia de los análisis entre 2 y 3 poblaciones mayores al 85% para Oregon Norte y Oregon Sur. Es necesario considerar que ambas poblaciones poseen una menor cantidad de individuos (8 y 9 respectivamente) en el reanálisis sugiriendo ampliar la colección de muestras en la región. Adicionalmente, en las estructuras poblacionales de Oregon Norte y Oregon Sur, se puede evidenciar un individuo con un porcentaje mayor al 60% de identidad genética de la población de Wyoming. Este individuo puede relacionarse con el posible efecto de introgresión de genes por poblaciones cercanas (Hull et al., 2010). El efecto de poblaciones reservorio va disminuyendo por la presencia de barreras antrópicas emergentes facilitando el aislamiento progresivo en las poblaciones de Oregon. Otro punto relevante para las poblaciones de Oregon (Norte y Sur) es la importancia de ampliar el esfuerzo de muestreo de individuos, específicamente Oregon Central, excluida en este reanálisis por problemas de accesibilidad geográfica en la región (Peter J Thiemann, 2015).

Los resultados obtenidos en los submuestreos por exclusión de individuos presentaron un efecto mayor en la resolución de las identidades genéticas de cada población reanalizada. El efecto de este submuestreo por exclusión de individuos mejoró la representación de las características de poblaciones con un tamaño de muestra reducida como Oregon Norte (8) y Oregon Sur (9). El uso de 3 submuestras (A, B y C) aleatorias de 30 individuos de la población de Wyoming corroboraron la presencia de 2 estructuras independientes para Oregon Norte y Sur respaldado con sus respectivos valores de K y de correspondencia a su grupo mayores a 87%. El efecto de las poblaciones con mayor tamaño poblacional es un parámetro a considerar debido al enmascaramiento de estructuras en las poblaciones estudiadas (Sebastien J.

Puechmaille, 2016; Sébastien J. Puechmaille et al., 2009). Los análisis de STRUCTURE pueden ser afinados considerando el uso de herramientas de bioestadística para descartar posibles sesgos en la identificación de estructuras genéticas (Kalinowski, 2011; Toyama et al., 2020). La relevancia de los análisis bioestadísticos exploratorios en las bases de datos genómicas permite mejorar la resolución en la descripción de las identidades genéticas de cada población.

Las poblaciones de Idaho y Wyoming presentan mayor afinidad genética al pertenecer a un grupo genético (clústeres) confirmando la existencia de flujo genético entre estas. En los 3 submuestreos (A, B y C) de exclusión de individuos hay 6 individuos de la población de Idaho con una identidad genética mayor a 80% de la población de Wyoming, junto a un valor de correspondencia a su grupo genético mayor a 60%. Esto evidencia el leve flujo genético existente por parte de individuos de Wyoming, contribuido por tener una distancia geográfica menor que el resto de poblaciones. El flujo genético existente entre estas poblaciones ha sido estudiado por décadas en los proyectos de conservación en el estado de Wyoming (Williams, 2012). Estas iniciativas han facilitado la conservación de la población de búhos grises en Wyoming y sus poblaciones cercanas (Bryan Bedrosian, Katherine Gura, 2015; Hull et al., 2010). El interés por ambas poblaciones es debido a la evidencia del efecto progresivo del aislamiento y la pérdida de conectividad entre ellas (Williams, 2012), apuntando a nuevas propuestas de investigación sobre la dinámica de su estructura poblacional no descritas anteriormente.

4.2 Estructura poblacional de Falco mexicanus

Los reanálisis de las poblaciones de Falco mexicanus presentaron cambios notables en la representación de su estructura poblacional y en la resolución de las características en la identidad genética de cada una de estas. La estructura sugerida por Doyle, et. al (2018) sostiene una sola población panmítica entre las 4 poblaciones muestreadas. La inferencia demostrada se comprobó con el reanálisis general de las poblaciones demostrando con los representaciones gráficas de PCA y DPCA un solo grupo genético (clúster). Sin embargo, la representación de la estructura poblacional en el estudio previo demuestra vacíos/limitaciones en la descripción de las características en la identidad genética de la población (Figuras 10a y 10b). Éste estudio

(Doyle et al., 2018) se enfocó a seleccionar los SNPs (alelos) con mayor evidencia de efecto de selección, identificándolas con el software BLAST, y posteriormente el análisis de frecuencias alélicas con correcciones de duplicación (SNPs) con el uso de softwares GenA1Ex y snpStats previo a análisis de estructura poblacional con STRUCTURE.

Los valores obtenidos de PCA y DPCA en las poblaciones de *Falco mexicanus* en el estudio de referencia no son descritos, debido a los criterios de análisis utilizados. Esto limita la representación de la estructura poblacional de la especie, perdiendo resolución de las poblaciones. Las representaciones gráficas de PCA registran los primeros rasgos relevantes de distribución como una inferencia previa de la estructura poblacional (Grünwald, Niklaus J., Zhian N. Kamvar, 2015; Grünwald et al., 2017). El gráfico de la estructura poblacional de *Falco mexicanus* en el estudio de referencia está minimizado a causa de la pérdida de inferencias resultantes de análisis bioestadísticos. Por otro lado, los resultados obtenidos en este reanálisis proveen características no presentadas previamente sobre la estructura de cada población. Por ende, los resultados de PCA y DPCA de este reanálisis no pueden ser comparados con el estudio referido debido a las diferentes metodologías aplicadas en la obtención de la estructura poblacional de esta especie. El soporte de los análisis estadísticos multivariantes entre grupos (submuestreos) identifican nuevas inferencias y aproximaciones de los posibles clústeres genéticos para la elaboración de gráficas de estructura poblacional de mejor resolución. En ese sentido los análisis discriminantes de componentes Principales (DPCA) son relevantes en los análisis genómicos al proveer inferencias de estructura poblacional como el número de grupos genéticos probables y la identidad genética de cada grupo estudiado (Jombart et al., 2010).

Los submuestreos de las poblaciones de halcones mejoran la resolución de la estructura poblacional de las 4 poblaciones estudiadas (East Bay, Pinnacles, Mojave e Idaho). Al igual que el reanálisis general de las poblaciones, en estos submuestreos se destaca la estructura de las poblaciones de Idaho y East Bay. East Bay se identifica como la población con mayor porcentaje de correspondencia genética entre el 80% y 100% con los submuestreos entre 2 y 3 poblaciones. Esto puede inferir un efecto del tamaño de las muestras (Kalinowski, 2011), similar al caso de los búhos con la población de Wyoming. Por otro lado, en las poblaciones de East Bay e Idaho proponen posibles procesos de aislamiento, los cuales están respaldados por la

fragmentación de hábitats (actividades antrópicas), más acentuados en la región cercana a la costa oeste de California (Potter, 2015).

Para los submuestreos por exclusión de individuos (submuestreos A , B y C de las poblaciones de mayor tamaño: East Bay y Pinnacles) se mantienen resultados similares a los submuestreos por aislamiento de poblaciones y totales con un valor preliminar de $K=1$ en las 4 poblaciones analizadas. En los submuestreos A, B y C entre 2 poblaciones mejora la resolución de cada población, específicamente a nivel de individuos, acentuando con mayor diferenciación las poblaciones de Idaho y East Bay. Complementario a estos resultados de submuestreo por exclusión de individuos, los valores de K obtenidos tuvieron sensibilidad estadística en los análisis entre Idaho y East Bay. El valor de K presentado en las gráficas de BIC se mantuvo entre 1 y 2, con una diferencia de 0.40 puntos entre ambos resultados. Esto se puede considerar como una posible sub estructura de ambas poblaciones, corroborando el efecto del tamaño de las poblaciones sobre los datos y la obtención del valor de K (Kalinowski, 2011). Esto resalta la importancia de los análisis bioestadísticos previos al uso de programas de estructura poblacional como STRUCTURE, los cuales pueden tener un mayor número de sesgos (Kalinowski, 2011; Sébastien J. Puechmaille et al., 2009).

Los submuestreos A, B y C entre East Bay y Idaho resaltan la resolución en la identidad genética a nivel de individuos, sugiriendo el posible efecto de aislamiento entre estas poblaciones, donde la identidad genética de Idaho en East Bay es menor a 40% en unos 4 individuos de East Bay (en los submuestreos A, B y C) y unos 7 individuos con menor porcentaje (entre 10 a 3%). Al ser poblaciones más alejadas al margen del rango de distribución, pueden estar más amenazadas por efectos de fragmentación de hábitats y presentando un posible aislamiento (Steenhof & McKinley, 2006). Para las poblaciones restantes, Pinnacles y Mojave poseen diferencias en la resolución de sus identidades genéticas compartiendo mayor porcentaje de identidad genética (entre 20 y 30%) con Idaho. Los valores presentados de las poblaciones de Pinnacles y Mojave pueden estar relacionados a la cercanía a las áreas protegidas de la región (Mcmahon et al., 2014; Steenhof et al., 2005) manteniendo la conectividad entre ellos.

4.3 Diversidad Genética de *Strix nebulosa* y *Falco mexicanus*

Los resultados del reanálisis de diversidad genética (Heterocigocidad esperada y heterocigocidad observada) en las 2 especies de interés (*Strix nebulosa* y *Falco mexicanus*) no poseen cambios significativos en todos los submuestreos realizados. El índice de fijación global (F_{st}) y por pares ($pairwise F_{st}$) en ambas especies sostienen valores similares con los resultados obtenidos en los estudios de referencia, corroborando el aislamiento marcado entre poblaciones de *Strix nebulosa* y la falta de estructura poblacional entre las poblaciones de *Falco mexicanus* evaluadas. Asimismo, se sugiere un baja diversidad genética entre las poblaciones de *Strix nebulosa* infiriendo el incremento de erosión de genes por el aislamiento geográfico (Athrey et al., 2012; Wang, 2004) respaldado por valores negativos en el coeficiente de consanguinidad (F_{is}). Los valores de índice de consanguinidad de los submuestreos evaluados de *Falco mexicanus* se mantienen en las inferencias previas de una población con una proporción alta de heterocigocidad en los individuos y endogamia mínima (Doyle et al., 2018; Jacobsen et al., 2008; Steenhof et al., 1999). En esta especie cabe resaltar la relevancia de la interpretación de los resultados de estructura poblacional, la cual provee información necesaria para la evaluación de vulnerabilidad de poblaciones dando prioridad a grupos genéticos para su conservación.

5 Conclusiones y Recomendaciones

Dado el efecto del submuestreo en este reanálisis, se sugiere que la representación de la estructura poblacional de ambas especies está condicionada principalmente por la diversidad y divergencia genómica entre poblaciones. Los grupos genéticos altamente diferenciados, como en la mayoría de poblaciones de *Strix nebulosa*, no presentan cambios considerables al utilizar el submuestreo, exceptuando diferencias mínimas en la identidad genética a nivel de individuos. Por otro lado, poblaciones con mayor conectividad y alto porcentaje de admixture, similar a las poblaciones de *Falco mexicanus*, tienden a ser más susceptibles al tamaño de las muestras. Las poblaciones con un mayor número de individuos por muestra influyen en las inferencias obtenidas de los submuestreos, producto de la sensibilidad estadística al evaluarlas. Los resultados obtenidos por el análisis de submuestras permiten describir patrones no evaluados en la identidad genética entre poblaciones. Con las observaciones/inferencias obtenidas se puede recomendar los análisis de estructura poblacional usando submuestreos en casos donde el

interés de estudio son poblaciones con un flujo genético persistente por efectos migratorios (alto porcentaje de admixture) y con diferentes tamaños de muestra.

La relevancia en la evaluación de las poblaciones a partir de los análisis bioestadísticos multivariados y el planteamiento de submuestreos permite identificar patrones no considerados al momento de realizar un análisis con el total de muestras. Las limitantes del software STRUCTURE para obtener las estructuras poblacionales están condicionadas a diversos efectos como el tamaño de la muestra, el aislamiento de alelos bajo selección y la baja representación de matrices de SNPs de poblaciones. Asimismo, otro factor a considerar es la respuesta de la especie de interés (posible plasticidad genética) en la representación de su estructura poblacional.

Complementado a las conclusiones, se puede priorizar los esfuerzos de muestreo de poblaciones clave, las cuales muestran otros rasgos en su identidad genética por efecto de submuestreo. Las poblaciones con estas características pueden identificar grupos genéticos potencialmente vulnerables en corto o mediano plazo. Para la genómica de la conservación, esto viabiliza la identificación de poblaciones vulnerables a procesos de aislamiento por actividades antrópicas y la optimización recursos en la aplicación de nuevos planes de manejo o conservación de especies.

Referencias

- Athrey, G., Barr, K. R., Lance, R. F., & Leberg, P. L. (2012). Birds in space and time: Genetic changes accompanying anthropogenic habitat fragmentation in the endangered black-capped vireo (*Vireo atricapilla*). *Evolutionary Applications*, 5(6), 540–552. <https://doi.org/10.1111/j.1752-4571.2011.00233.x>
- Bianchi, L., & Liò, P. (2017). Opportunities for community awareness platforms in personal genomics and bioinformatics education. *Briefings in Bioinformatics*, 18(6), 1082–1090. <https://doi.org/10.1093/bib/bbw078>
- Bedrosian Bryan, Gura Katherine, B. M. (2015). *OCCUPANCY, NEST SUCCESS AND HABITAT USE OF GREAT GRAY OWLS IN WESTERN WYOMING*. https://tetonraptorcenter.org/assets/media/files/Final_Great_Gray_Owl_Report.pdf
- Chang, L. Y., Toghiani, S., Hay, E. H., Aggrey, S. E., & Rekaya, R. (2019). A weighted genomic relationship matrix based on fixation index (Fst) prioritized SNPs for genomic selection. *Genes*, 10(11). <https://doi.org/10.3390/genes10110922>
- de Meeûs, T., & Goudet, J. (2007). A step-by-step tutorial to use HierFstat to analyse populations hierarchically structured at multiple levels. *Infection, Genetics and Evolution*, 7(6), 731–735. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2007.07.005>
- Doyle, J. M., Bell, D. A., Bloom, P. H., Emmons, G., Fesnock, A., Katzner, T. E., LaPré, L., Leonard, K., SanMiguel, P., Westerman, R., & Andrew DeWoody, J. (2018). New insights into the phylogenetics and population structure of the prairie falcon (*Falco mexicanus*). *BMC Genomics*, 19(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-4615-z>
- Eckert, C. G., Samis, K. E., & Loughheed, S. C. (2008). Genetic variation across species' geographical ranges: The central-marginal hypothesis and beyond. *Molecular Ecology*, 17(5), 1170–1188. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03659.x>

- Evanno, G., Regnaut, S., & Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: A simulation study. *Molecular Ecology*, *14*(8), 2611–2620. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x>
- Fromhage, L., Kokko, H., & Reid, J. M. (2009). Evolution of mate choice for genome-wide heterozygosity. *Evolution*, *63*(3), 684–694. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2008.00575.x>
- Funk, W. C., McKay, J. K., Hohenlohe, P. A., & Allendorf, F. W. (2012). Harnessing genomics for delineating conservation units. *Trends in Ecology and Evolution*, *27*(9), 489–496. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2012.05.012>
- Grünwald, Niklaus J., Zhian N. Kamvar, S. E. E. (2015). *Population genetics and genomics in R*. https://grunwaldlab.github.io/Population_Genetics_in_R/TOC.html
- Grünwald, N. J., Everhart, S. E., Knaus, B. J., & Kamvar, Z. N. (2017). Best practices for population genetic analyses. *Phytopathology*, *107*(9), 1000–1010. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-12-16-0425-RVW>
- Haddad, N. M., Lars A. Brudvig, Jean Clobert, Kendi F. Davies, A. G., Robert D. Holt, Thomas E. Lovejoy, Joseph O. Sexton, Mike P. Austin, C. D. C., William M. Cook, Ellen I. Damschen, Robert M. Ewers, Bryan L. Foster, C. N. J., Andrew J. King, William F. Laurance, Douglas J. Levey, C. R. M., & Brett A. Melbourne, A. O. Nicholls, John L. Orrock, Dan-Xia Song, J. R. T. (2015). Habitat fragmentation and its lasting impact on Earth's ecosystems. *Science*, *1*(2), 9. <https://doi.org/doi:10.1126/sciadv.1500052>
- Hand, B. K., Lowe, W. H., Kovach, R. P., Muhlfeld, C. C., & Luikart, G. (2015). Landscape community genomics: Understanding eco-evolutionary processes in complex environments. *Trends in Ecology and Evolution*, *30*(3), 161–168. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2015.01.005>

- Hohenlohe, P. A., Funk, W. C., & Rajora, O. P. (2021). Population genomics for wildlife conservation and management. In *Molecular Ecology* (Vol. 30, Issue 1).
<https://doi.org/10.1111/mec.15720>
- Hull, J. M., Keane, J. J., Savage, W. K., Godwin, S. A., Shafer, J. A., Jepsen, E. P., Gerhardt, R., Stermer, C., & Ernest, H. B. (2010). Range-wide genetic differentiation among North American great gray owls (*Strix nebulosa*) reveals a distinct lineage restricted to the Sierra Nevada, California. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 56(1), 212–221.
<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2010.02.027>
- International Union for Conservation of Nature and Natural Resources. (2001). IUCN Red List Categories and Criteria: Version 3.1. In *World*. www.iucn.org/themes/ssc/red-lists.htm
- Jacobsen, F., Nesje, M., Bachmann, L., & Lifjeld, J. T. (2008). Significant genetic admixture after reintroduction of peregrine falcon (*Falco peregrinus*) in Southern Scandinavia. *Conservation Genetics*, 9(3), 581–591. <https://doi.org/10.1007/s10592-007-9373-4>
- Avice John C., L. I. J. (2004). Molecular Markers, Natural History, and Evolution. 2nd edition. In *The Auk* (Vol. 121, Issue 4). <https://doi.org/10.1093/auk/121.4.1298>
- Jombart, T. (2008). Adegnet: A R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics*, 24(11), 1403–1405. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn129>
- Jombart, T., Devillard, S., & Balloux, F. (2010). Discriminant analysis of principal components: A new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genetics*, 11. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-11-94>
- Kalinowski, S. T. (2011). The computer program STRUCTURE does not reliably identify the main genetic clusters within species: Simulations and implications for human population structure. *Heredity*, 106(4), 625–632. <https://doi.org/10.1038/hdy.2010.95>

- Kassambara, A. (2013). *Ggplot2: Guide to Create Beautiful Graphics in R* (STHDA (ed.)).
- Kinnison, M. T., & Hairston, N. G. (2007). Eco-evolutionary conservation biology: Contemporary evolution and the dynamics of persistence. *Functional Ecology*, *21*(3), 444–454. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2007.01278.x>
- Klütsch, C. F. C., Dyer, R. J., & Misof, B. (2012). Combining multiple analytical approaches for the identification of population structure and genetic delineation of two subspecies of the endemic Arabian burnet moth *Reissita simonyi* (Zygaenidae; Lepidoptera). *Conservation Genetics*, *13*(1), 21–37. <https://doi.org/10.1007/s10592-011-0259-0>
- Kozakiewicz, C. P., Burridge, C. P., Funk, W. C., Salerno, P. E., Trumbo, D. R., Gagne, R. B., Boydston, E. E., Fisher, R. N., Lyren, L. M., Jennings, M. K., Riley, S. P. D., Serieys, L. E. K., VandeWoude, S., Crooks, K. R., & Carver, S. (2019). Urbanization reduces genetic connectivity in bobcats (*Lynx rufus*) at both intra- and interpopulation spatial scales. *Molecular Ecology*, *28*(23), 5068–5085. <https://doi.org/10.1111/mec.15274>
- Lee, C., Abdool, A., & Huang, C. H. (2009). PCA-based population structure inference with generic clustering algorithms. *BMC Bioinformatics*, *10*(SUPPL. 1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-10-S1-S73>
- Lees, A. C., Seddon, N., Darski, B., Aleixo, A., Bonsall, M. B., Tobias, J. A., & Ecology, M. (n.d.). Species interactions regulate the collapse of biodiversity and. *Species Interactions Regulate the Collapse of Biodiversity And*. [http://scholar.google.com/scholar?q=Species interactions regulate the collapse of biodiversity and&btnG=&hl=en&num=20&as_sdt=0%2C22 VN - readcube.com](http://scholar.google.com/scholar?q=Species+interactions+regulate+the+collapse+of+biodiversity+and&btnG=&hl=en&num=20&as_sdt=0%2C22+VN+-+readcube.com)
- Lindenmayer, D. B., & Fischer, J. (2006). How landscape change affects organisms: A conceptual framework. In *Habitat fragmentation and landscape change: An ecological and conservation synthesis*.

- Luck, G. W., Daily, G. C., & Ehrlich, P. R. (2003). Population diversity and ecosystem services. *Trends in Ecology and Evolution*, *18*(7), 331–336.
[https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(03\)00100-9](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(03)00100-9)
- McMahon, B. J., Teeling, E. C., & Höglund, J. (2014). How and why should we implement genomics into conservation? *Evolutionary Applications*, *7*(9), 999–1007.
<https://doi.org/10.1111/eva.12193>
- McVean, G. (2009). A genealogical interpretation of principal components analysis. *PLoS Genetics*, *5*(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000686>
- Mendelsohn, B., Bedrosian, B., Love Stowell, S. M., Gagne, R. B., LaCava, M. E. F., Godwin, B. L., Hull, J. M., & Ernest, H. B. (2020). Population genomic diversity and structure at the discontinuous southern range of the Great Gray Owl in North America. *Conservation Genetics*, *21*(4), 693–706. <https://doi.org/10.1007/s10592-020-01280-8>
- Paradis, E. (2005). R for Beginners. *Krankenhauspharmazie*, *36*(7), 366–367.
- Peter J Thiemann, H. F. (2015). *Great Gray Owl : In California, Oregon and Washington* (Nebulosa Press; 1st edición (ed.)).
- Porrás-Hurtado, L., Ruiz, Y., Santos, C., Phillips, C., Carracedo, Á., & Lareu, M. V. (2013). An overview of STRUCTURE: Applications, parameter settings, and supporting software. *Frontiers in Genetics*, *4*(MAY), 1–13.
<https://doi.org/10.3389/fgene.2013.00098>
- Potter, C. (2015). A Case Study of Forest and Woodland Habitat Loss to Disturbance and Development in an Ex-Urban Landscape: Santa Clara County, California 1999-2009. *Current Urban Studies*, *03*(01), 18–24. <https://doi.org/10.4236/cus.2015.31003>
- Primmer, C. R. (2009). From conservation genetics to conservation genomics. *Annals of the*

New York Academy of Sciences, 1162, 357–368. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.04444.x>

Provan, J., & Maggs, C. A. (2011). Unique genetic variation at a species' rear edge is under threat from global climate change. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 279(1726), 39–47. <https://doi.org/10.1098/rspb.2011.0536>

Puechmaille, Sebastien J. (2016). The program structure does not reliably recover the correct population structure when sampling is uneven: Subsampling and new estimators alleviate the problem. *Molecular Ecology Resources*, 16(3), 608–627. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12512>

Puechmaille, Sébastien J., Soisook, P., Yokubol, M., Piyapan, P., Ar Gouilh, M., Mie, K. M., Kyaw, K. K., Mackie, I., Bumrungsri, S., Dejtaradol, A., Nwe, T., Bu, S. S. H., Satasook, C., Bates, P. J., & Teeling, E. C. (2009). Population size, distribution, threats and conservation status of two endangered bat species *Craseonycteris thonglongyai* and *hipposideros turpis*. *Endangered Species Research*, 8(1–2), 15–23. <https://doi.org/10.3354/esr00157>

Reid, A. J., Carlson, A. K., Creed, I. F., Eliason, E. J., Gell, P. A., Johnson, P. T. J., Kidd, K. A., MacCormack, T. J., Olden, J. D., Ormerod, S. J., Smol, J. P., Taylor, W. W., Tockner, K., Vermaire, J. C., Dudgeon, D., & Cooke, S. J. (2019). Emerging threats and persistent conservation challenges for freshwater biodiversity. *Biological Reviews*, 94(3), 849–873. <https://doi.org/10.1111/brv.12480>

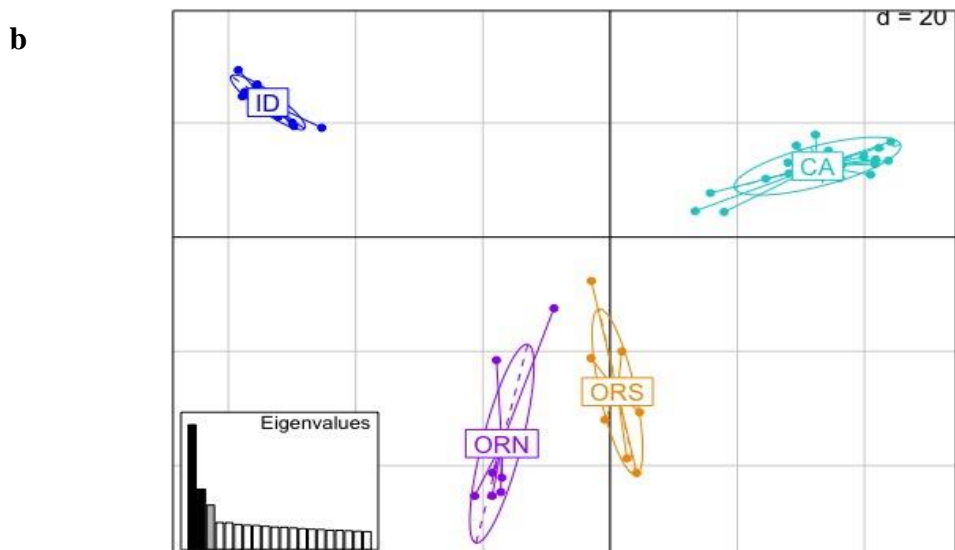
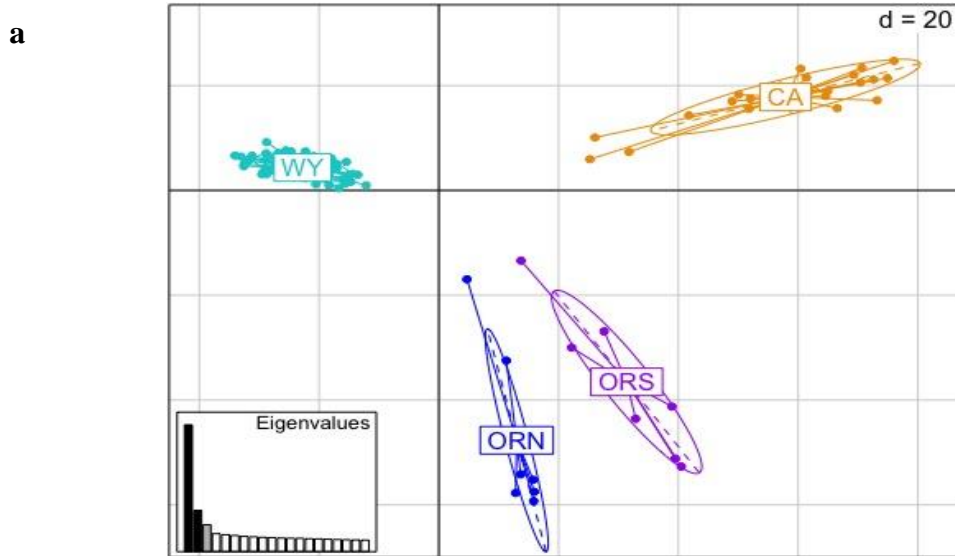
Richard Frankham, Jonathan D. Ballou, Katherine Ralls, Mark Eldridge, Michele R. Dudash, Charles B. Fenster, Robert C. Lacy, and P. S. (2019). *A Practical Guide for Genetic Management of Fragmented Animal and Plant Populations*. Oxford University Press. <https://global.oup.com/academic/product/a-practical-guide-for-genetic-management-of-fragmented-animal-and-plant-populations-9780198783411?cc=us&lang=en&#>

- Soulé, M. E. (1986). *Conservation biology : the science of scarcity and diversity* (U. S. Sinauer Associates Inc. (ed.)).
- Steenhof, K., Fuller, M. R., Kochert, M. N., & Bates, K. K. (2005). Long-range movements and breeding dispersal of Prairie Falcons from southwest Idaho. *Condor*, *107*(3), 481–496. [https://doi.org/10.1650/0010-5422\(2005\)107\[0481:LMABDO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1650/0010-5422(2005)107[0481:LMABDO]2.0.CO;2)
- Steenhof, K., Kochert, M. N., Carpenter, L. B., & Lehman, R. N. (1999). Long-term Prairie Falcon population changes in relation to prey abundance, weather, land uses, and habitat conditions. *Condor*, *101*(1), 28–41. <https://doi.org/10.2307/1370443>
- Steenhof, K., & McKinley, J. O. (2006). Size dimorphism, molt status, and body mass variation of Prairie Falcons nesting in the Snake River Birds of Prey National Conservation Area. *Journal of Raptor Research*, *40*(1), 71–75. [https://doi.org/10.3356/0892-1016\(2006\)40\[71:SDMSAB\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.3356/0892-1016(2006)40[71:SDMSAB]2.0.CO;2)
- Steiner, C. C., Putnam, A. S., Hoeck, P. E. A., & Ryder, O. A. (2013). Conservation genomics of threatened animal species. *Annual Review of Animal Biosciences*, *1*, 261–281. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-031412-103636>
- Sumangali, K., Borra, L., & Suraj Mishra, A. (2017). A Comprehensive review on the open source hackable text editor-ATOM. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, *263*(4). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/263/4/042061>
- Supple, M. A., & Shapiro, B. (2018). Conservation of biodiversity in the genomics era. *Genome Biology*, *19*(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s13059-018-1520-3>
- Toyama, K. S., Crochet, P. A., & Leblois, R. (2020). Sampling schemes and drift can bias admixture proportions inferred by structure. *Molecular Ecology Resources*, *20*(6), 1769–1785. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13234>

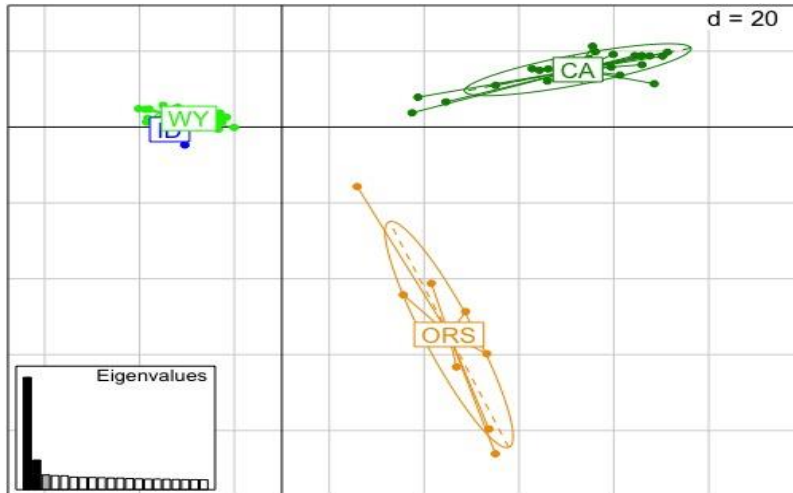
- Vision, T. (2010). The Dryad Digital Repository: Published evolutionary data as part of the greater data ecosystem No Title. *Nature*, 1.
- Wang, J. (2004). Application of the one-migrant-per-generation rule to conservation and management. *Conservation Biology*, 18(2), 332–343. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2004.00440.x>
- Wang, J. (2016). The computer program structure for assigning individuals to populations: easy to use but easier to misuse. *Molecular Ecology Resources*, 17(5), 981–990. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12650>
- Weckworth, B. V., Musiani, M., Decesare, N. J., McDevitt, A. D., Hebblewhite, M., & Mariani, S. (2013). Preferred habitat and effective population size drive landscape genetic patterns in an endangered species. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280(1769). <https://doi.org/10.1098/rspb.2013.1756>
- Williams, E. J. (2012). *Conservation assessment for great gray owl (Strix nebulosa)*. April, 1–55.

Anexos (Material suplementario)

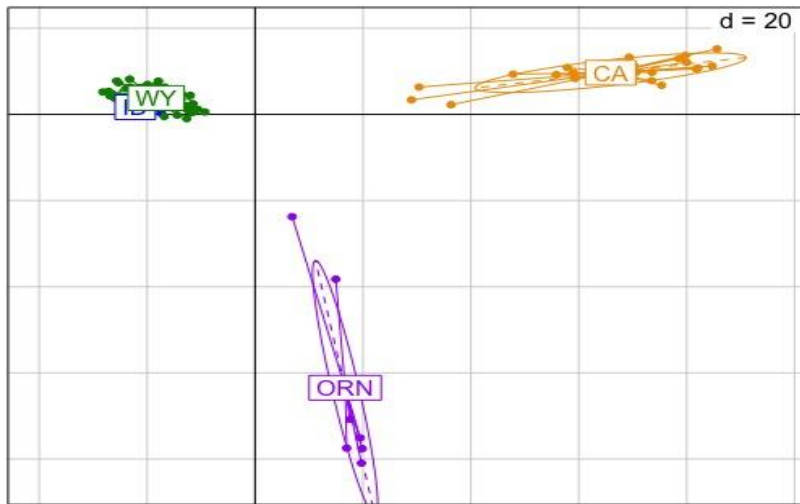
Anexo-1. Gráfica de Análisis de Componentes Principales entre 4 poblaciones *Strix nebulosa* (submuestreos excluyendo una población). (a) sin Idaho, (b) sin Wyoming (c) sin California, (d) sin Oregon Norte y (d) sin Oregon Sur.



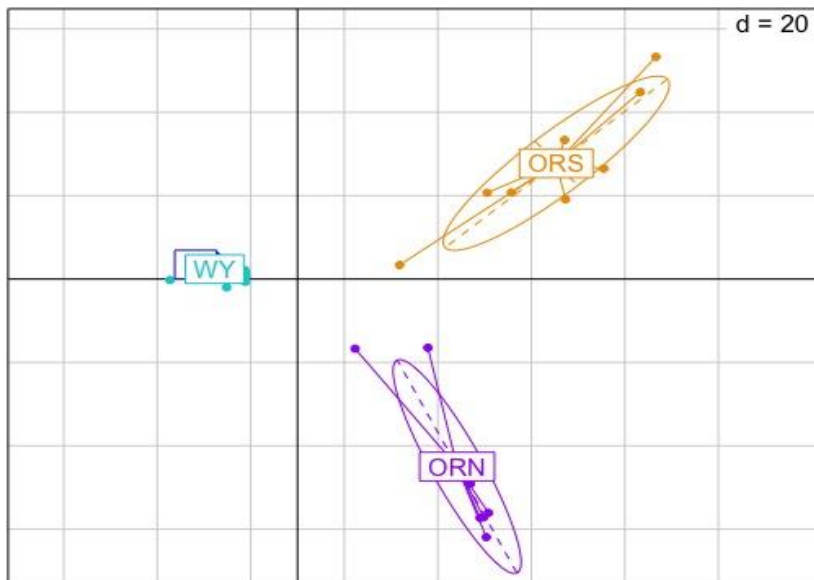
c



d

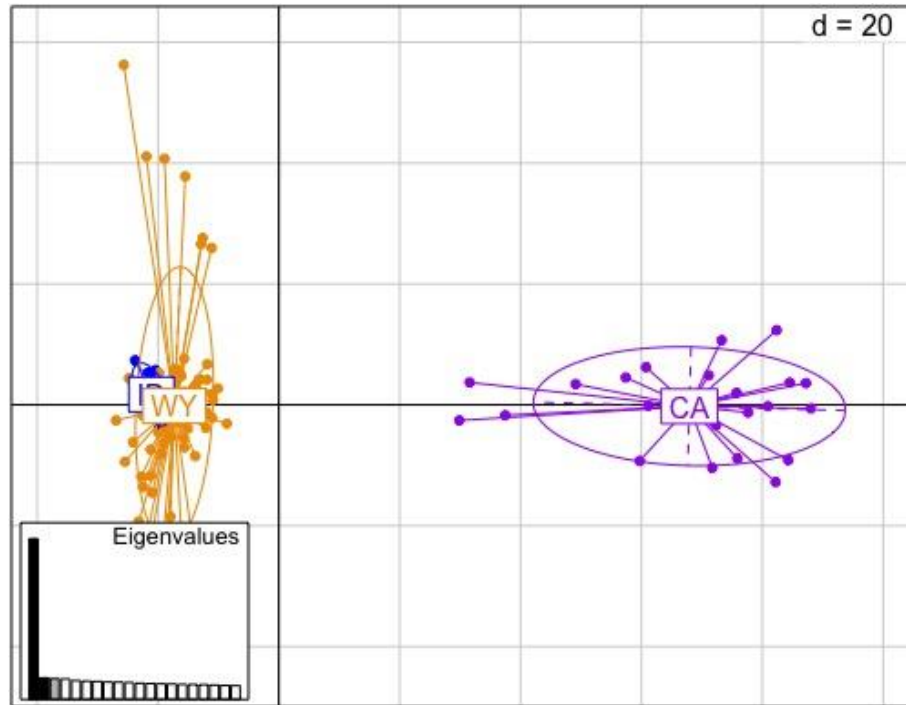


e

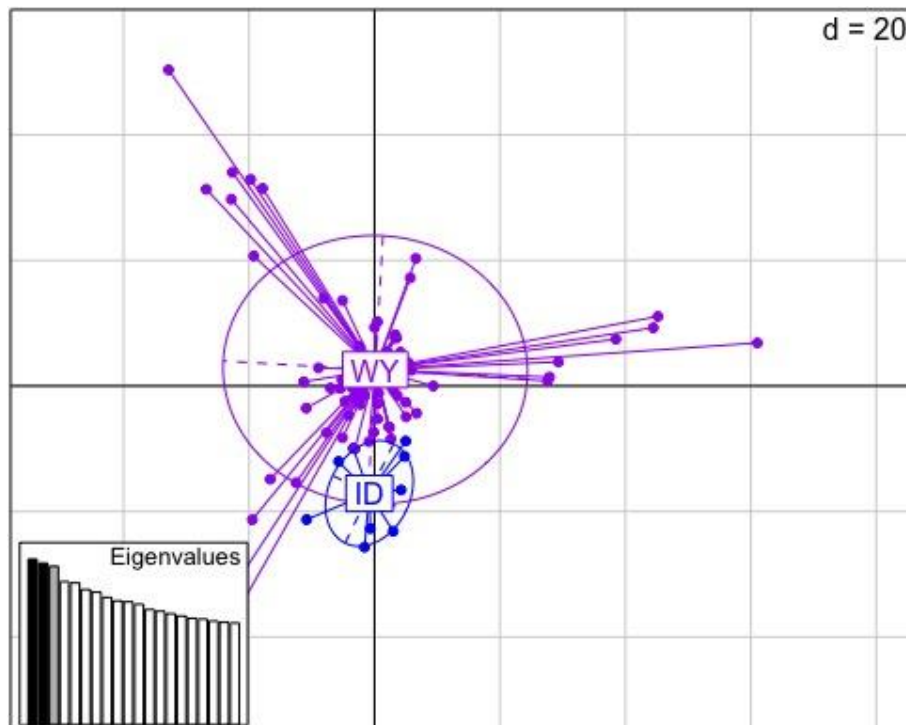


Anexo-2. Análisis de componentes principales de 3 y 2 poblaciones de *Strix nebulosa* (submuestras excluyendo una población) a. Sin Oregon Norte y Oregon Sur (CA-ID-WY) b. Idaho (ID) y Wyoming (WY).

a



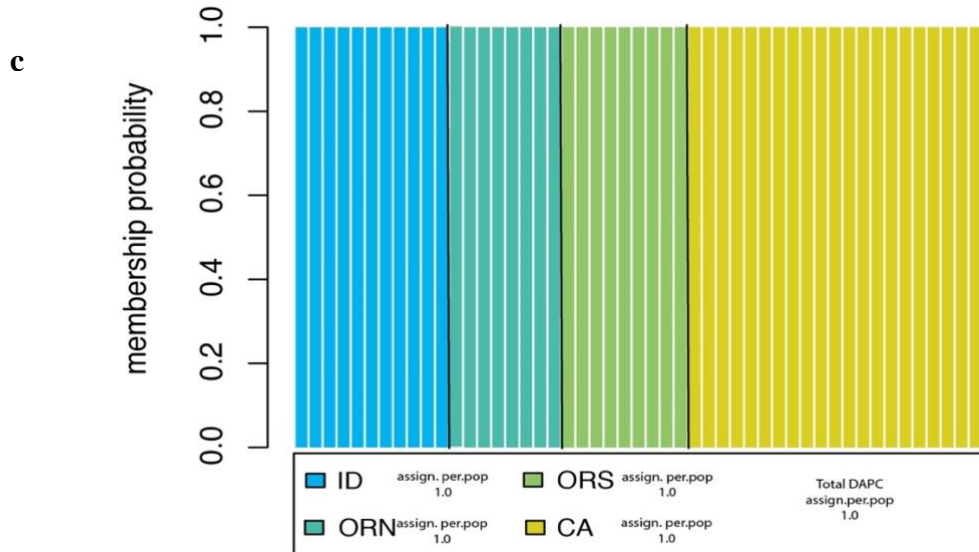
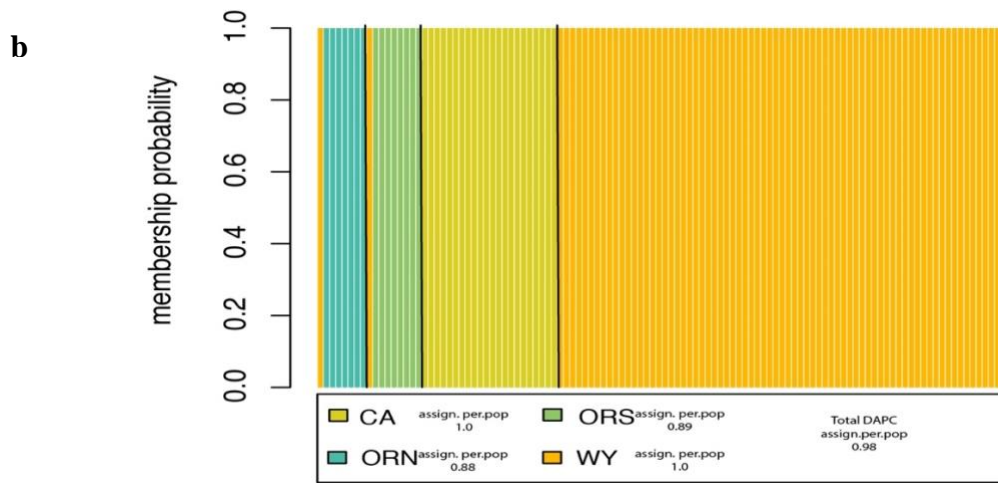
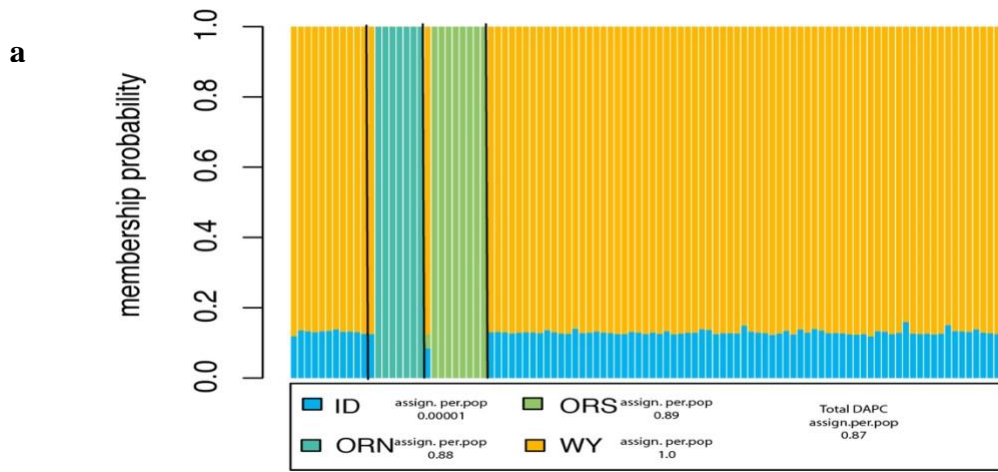
b



Anexo-3. Valores de K obtenidos con el paquete *adegenet* durante el análisis discriminante de componentes principales. Valores obtenidos por medio de criterio de inferencia Bayesiana para el análisis completo de las muestras de las 5 poblaciones de *Strix nebulosa* y sus submuestras a nivel de poblaciones y subgrupos.

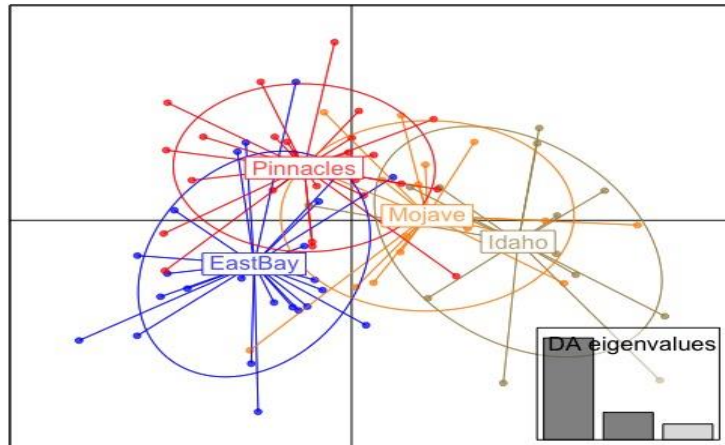
Valores de K en los sub muestreos de 5 poblaciones de <i>Strix nebulosa</i>				
	5 Poblaciones	5 Poblaciones (sub A)	5 Poblaciones (sub B)	4 Poblaciones (sub C)
BIC (K values)	3	3	3	3
	4 Poblaciones sin CA	4 Poblaciones sin CA (A)	4 Poblaciones sin CA (B)	4 Poblaciones sin CA (C)
BIC (K values)	2	2	2	2
	4 Poblaciones sin WY			
BIC (K values)	3			
	4 Poblaciones sin ID	4 Poblaciones sin ID (A)	4 Poblaciones sin ID (B)	4 Poblaciones sin ID (C)
BIC (K values)	3	3	3	3
	4 Poblaciones sin ORN	4 Poblaciones sin ORN (A)	4 Poblaciones sin ORN (B)	4 Poblaciones sin ORN (C)
BIC (K values)	2	3	3	2
	3	2	2	3
	4 Poblaciones sin ORS	4 Poblaciones sin ORS (A)	4 Poblaciones sin ORS (B)	4 Poblaciones sin ORS (C)
BIC (K values)	3	3	3	2
	3 Poblaciones (CA-ORN-ORS)		2	3
BIC (K values)	2	y		
	3			
	3 Poblaciones (WY-ID-CA)	3 Poblaciones (WY-ID-CA) A	3 Poblaciones (WY-ID-CA) B	3 Poblaciones (WY-ID-CA) C
BIC (K values)	2	2	2	2
	3 Poblaciones (WY-ORN-ORS)	3 Poblaciones (WY-ORN-ORS) A	3 Poblaciones (WY-ORN-ORS) B	3 Poblaciones (WY-ORN-ORS) C
BIC (K values)	2	2	2	2
	3	3	3	3
	2 Poblaciones (WY-ID)	2 Poblaciones (WY-ID) A	2 Poblaciones (WY-ID) B	2 Poblaciones (WY-ID) C
BIC (K values)	1	1	1	1
	2 Poblaciones (WY-ORN)	2 Poblaciones (WY-ORN) A	2 Poblaciones (WY-ORN) B	2 Poblaciones (WY-ORN) C
BIC (K values)	2	2	2	2
	2 Poblaciones (WY-ORS)	2 Poblaciones (WY-ORS) A	2 Poblaciones (WY-ORS) B	2 Poblaciones (WY-ORS) C
BIC (K values)	2	2	2	2

Anexo-4. Gráfico de Estructura Poblacional obtenido del reanálisis (*Strix nebulosa*) utilizando el paquete *adegenet*. Cada barra representa un individuo de *Strix nebulosa* en cada análisis de 4 poblaciones (a) 4 poblaciones sin California (CA), (b) 4 poblaciones sin Idaho (ID) y (c) 4 poblaciones sin Wyoming (WY) en cada caso se excluyó una población.

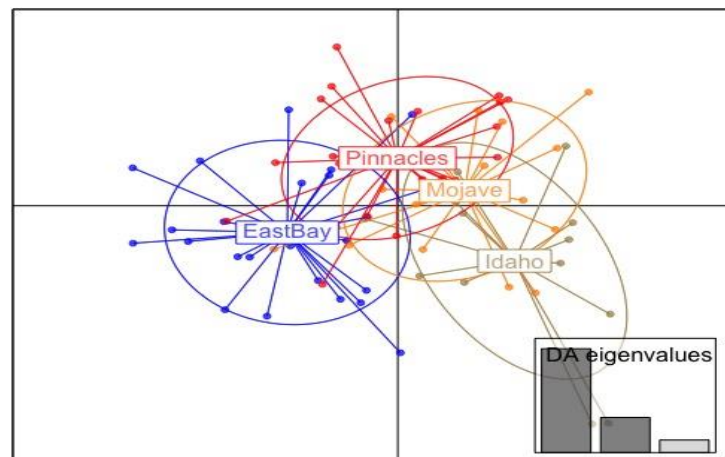


Anexo-5. Análisis Discriminante de componentes principales de submuestreo A, B y C de las 4 poblaciones reanalizadas de *Falco mexicanus* a (East Bay EB= 25, Idaho ID=14, Pinnacles PS=25, Mojave MJ=17). Los dos primeros ejes explican más del 85 y 75 % de la variación entre individuos de cada población.

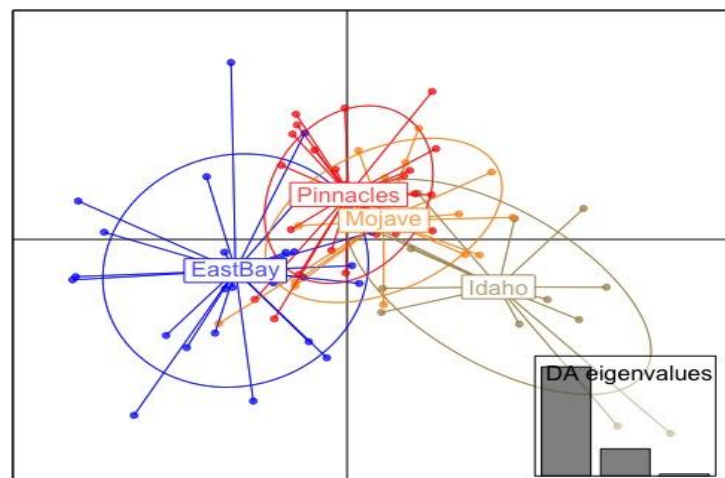
a



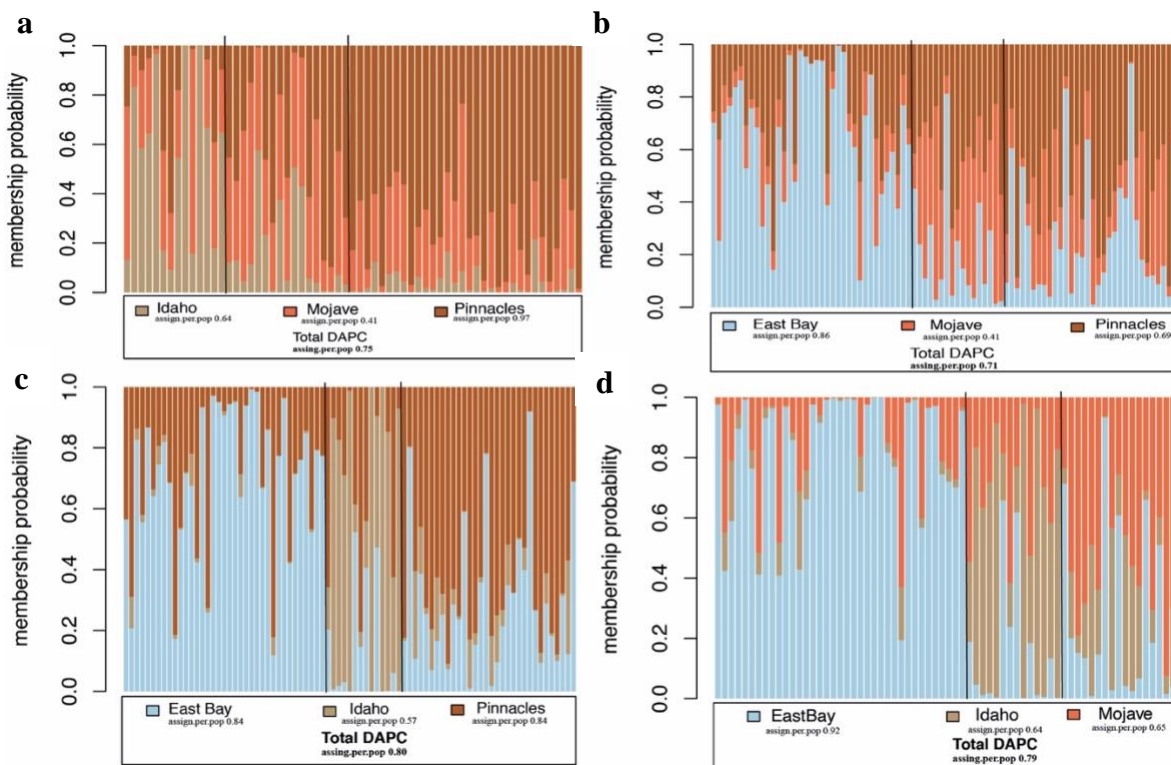
b

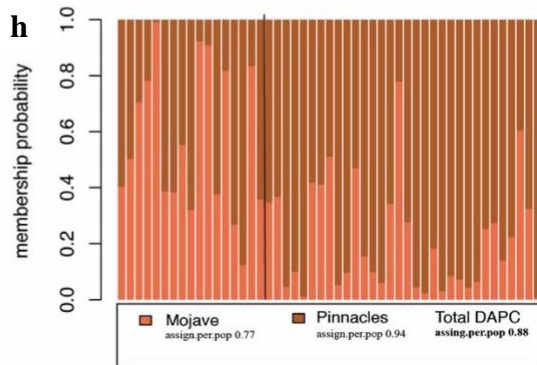
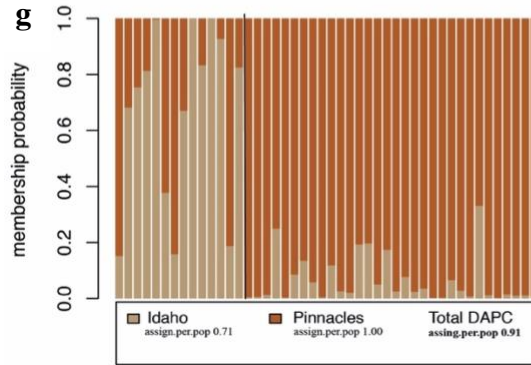
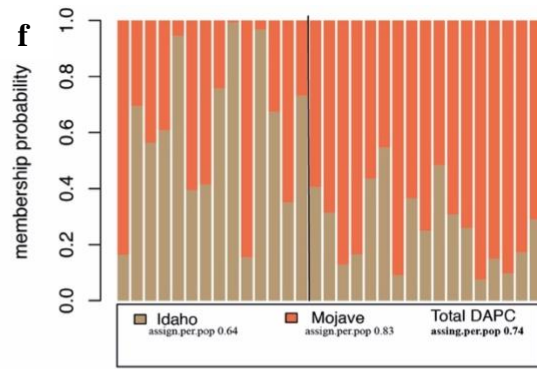
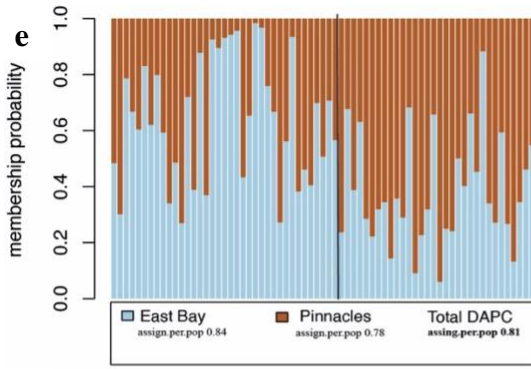


c

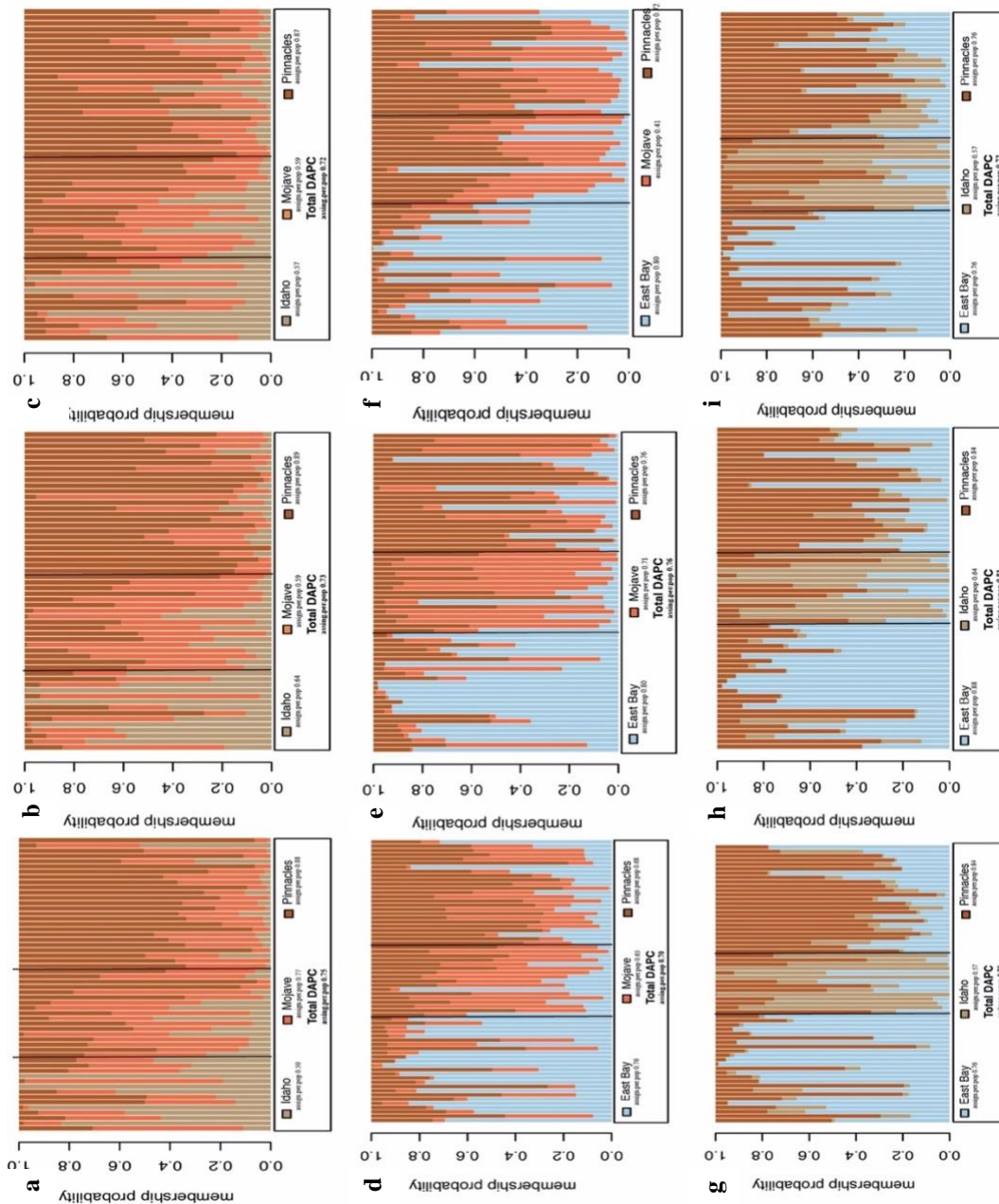


Anexo-6. Gráfico de Estructura Poblacional obtenido del reanálisis (*Falco mexicanus*) utilizando el paquete *adegenet*. Cada barra representa un individuo de *Falco mexicanus* en cada análisis de 3 poblaciones (a,b,c y d) y 2 poblaciones (e, f, g, h) , excluyendo en cada caso una población. Cada color representa una población separado de las demás con líneas verticales negras. (East Bay EB= 37, Idaho ID=14, Pinnacles PS=32, Mojave MJ=17). Los valores de asignación por grupo (población) fluctúa entre el 70% a 57% No se presenta una identidad genética para cada una de las poblaciones identificando sólo un grupo independiente.

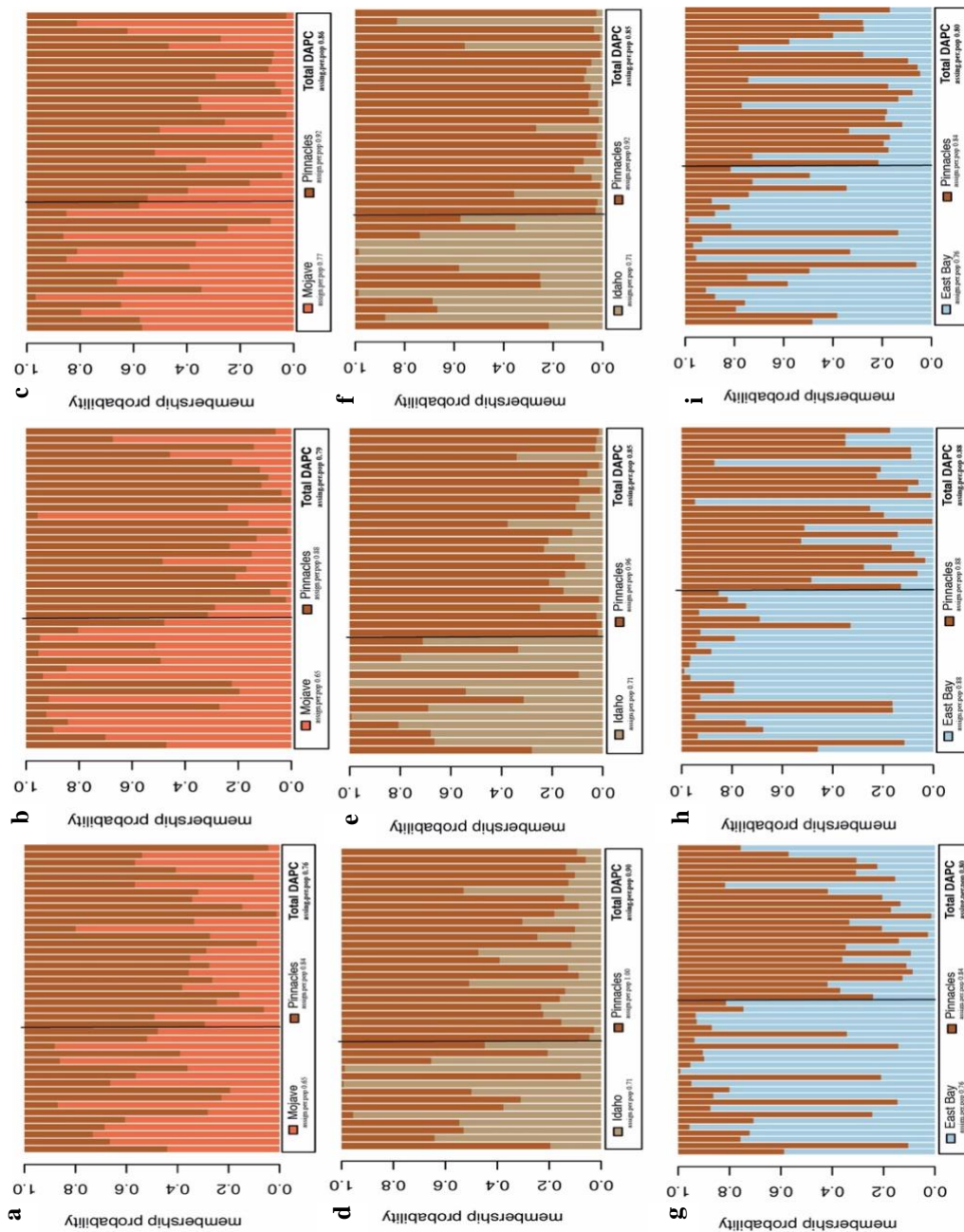




Anexo-7. Gráficos de Estructura Poblacional obtenido del reanálisis (*Falco mexicanus*) entre 3 poblaciones y sus submuestras (Subgrupos A, B y C) excluyendo en cada caso una población: Idaho, Mojave y Pinnacles (a,b,c): East Bay, Mojave y Pinnacles (d,e,f); East Bay, Idaho y Pinnacles (g,h,i). Cada barra representa un individuo de *Falco mexicanus* de las 4 poblaciones reanalizadas. (East Bay EB= 37, Idaho ID=14, Pinnacles PS=32, Mojave MJ=17) y para los subgrupos A, B y C con sub muestras aleatorias de East Bay y Pinnacles (East Bay EB= 25, Idaho ID=14, Pinnacles PS=25, Mojave MJ=17). Cada color representa una población separadas entre ellas con barras verticales negras.



Anexo-8. Gráficos de Estructura Poblacional obtenido del reanálisis (*Falco mexicanus*) entre 2 poblaciones y sus submuestras (Subgrupos A, B y C) excluyendo en cada caso dos poblaciones: Mojave- Pinnacles (a,b,c); Idaho Pinnacles (d,e,f) y East Bay-Pinnacles (g,h,i). Cada barra representa un individuo de *Falco mexicanus* de las 4 poblaciones reanalizadas. (East Bay EB= 37, Idaho ID=14, Pinnacles PS=32, Mojave MJ=17) y para los subgrupos A, B y C con submuestras aleatorias de East Bay y Pinnacles (East Bay EB= 25, Idaho ID=14, Pinnacles PS=25, Mojave MJ=17). Cada color representa una población separado de las demás con barras verticales negras.



Anexo-9. Valores de K obtenidos con el paquete *adegenet* durante el análisis discriminante de componentes principales. Valores obtenidos para el análisis completo de las muestras de las 4 poblaciones de *Falco mexicanus* y sus submuestras a nivel de poblaciones y subgrupos.

Valores de K en los sub muestreos de 4 poblaciones de <i>Falco mexicanus</i>				
	4 Poblaciones	4 Poblaciones (sub A)	4 Poblaciones (sub B)	4 Poblaciones (sub C)
BIC (K values)	1	1	1	1
	2	2	2	2
	3 Poblaciones sin East Bay	3 Poblaciones sin EB (sub A)	3 Poblaciones sin EB (sub B)	3 Poblaciones sin EB (sub C)
BIC (K values)	1	1	1	1
	2	2	2	2
	3 Poblaciones sin Pinnacles	3 Poblaciones sin PS (sub A)	3 Poblaciones sin PS (sub B)	3 Poblaciones sin PS (sub C)
BIC (K values)	1	1	1	1
	2	2	2	2
	3 Poblaciones sin Idaho	3 Poblaciones sin ID (sub A)	3 Poblaciones sin ID (sub B)	3 Poblaciones sin ID (sub C)
BIC (K values)	1	1	1	1
	2	2	2	2
	3 Poblaciones sin Mojave	3 Poblaciones sin MJ (sub A)	3 Poblaciones sin MJ (sub B)	3 Poblaciones sin MJ (sub C)
BIC (K values)	1	1	1	1
	2	2	2	2
	2 Poblaciones EB-PS	2 Poblaciones EB-PS (A)	2 Poblaciones EB-PS (B)	2 Poblaciones EB-PS (C)
BIC (K values)	1	1	1	1
	2	2	2	2
	2 Poblaciones EB-ID	2 Poblaciones EB-ID (A)	2 Poblaciones EB-ID (B)	2 Poblaciones EB-ID (C)
BIC (K values)	1	1	1	1
	2	2	2	2
	2 Poblaciones EB-MJ	2 Poblaciones EB-MJ (A)	2 Poblaciones EB-MJ (B)	2 Poblaciones EB-MJ (C)
BIC (K values)	1	1	1	1
	2	2	2	2
	2 Poblaciones ID-PS	2 Poblaciones ID-PS (A)	2 Poblaciones ID-PS (B)	2 Poblaciones ID-PS (C)
BIC (K values)	1	1	1	1
	2	2	2	2
	2 Poblaciones PS-MJ	2 Poblaciones PS-MJ (A)	2 Poblaciones PS-MJ (B)	2 Poblaciones PS-MJ (C)
BIC (K values)	1	1	1	1
	2	2	2	2

Anexo-10. (a) Curva BIC del valor $K=1$ del análisis de 2 poblaciones (East Bay-Idaho) de *Falco mexicanus*; (b) Curva BIC del valor $K=1$ del análisis de 2 poblaciones de *Falco mexicanus* (East Bay-Idaho) para el subgrupo A; (c)) Curva BIC del valor $K=1$ del análisis de 2 poblaciones de *Falco mexicanus* (East Bay-Idaho) para el subgrupo B; (d)) Curva BIC del valor $K=1$ del análisis de 2 poblaciones de *Falco mexicanus* (East Bay-Idaho) para el subgrupo C.

