



## CURSO “Biología de la Conservación de Cévidos Neotropicales”

### PRÁCTICO (2024)

*Aplicación de marcadores moleculares para la identificación de especies a partir de muestras no invasivas*



**Docentes responsables:** Verónica Gutiérrez, Claudia Corbi Botto y Guillermo Morera

**Docente colaborador:** Matías González Barboza

## **Introducción:**

Uruguay enfrenta un desafío crucial en el equilibrio entre el desarrollo económico y la preservación de su rica biodiversidad. En un campo de Salto cerca de Arerunguá, la empresa UPM tiene planes de iniciar un proyecto de forestación que podría tener un impacto significativo en el ecosistema local. El área de Arerunguá en Salto, Uruguay, es fundamental para la conservación del venado de campo (*Ozotoceros bezoarticus*). Este sitio ofrece un hábitat natural diverso que incluye pastizales abiertos, bosques ribereños y matorrales, proporcionando condiciones óptimas para la alimentación, el refugio y la reproducción de la especie. La conservación de Arerunguá es crucial para asegurar la supervivencia de esta especie emblemática de Uruguay y para mantener la biodiversidad y las interacciones ecológicas dentro del ecosistema local. El predio a forestar se encuentra colindante a campos que albergan una variedad única de especies, incluyendo venados de campo (*Ozotoceros bezoarticus*) y pudiendo presentar especímenes de Guazubirá (*Subulo*), junto con animales no nativos silvestres como el ciervo Axis y y domésticos como ovejas (*Ovis*). La coexistencia de especies nativas con animales introducidos presenta un escenario complejo donde la conservación de la biodiversidad es crucial. Los venados de campo y guazubirá dependen de este hábitat para su subsistencia, siendo esenciales para el equilibrio ecológico regional. El rol de los Guardaparques y su sinergia con investigadores es indispensable para establecer una base robusta para la toma de una decisión fundada acerca del espacio candidato a forestar.

## **La Problemática:**

El proyecto de forestación propuesto podría alterar irreversiblemente este equilibrio. Introducir una nueva cobertura forestal podría modificar los patrones de hábitat y alimentación de los venados, así como afectar la dinámica de las poblaciones locales. Antes de proceder con la forestación, es imperativo realizar un exhaustivo relevamiento de las especies que cohabitan en el predio de Salto con ayuda de los guardaparques del lugar. Terminado el relevamiento, llegan al laboratorio varias fecas diferentes colectadas en el área de estudio.

Tenemos entonces, varias especies de artiodáctilos presentes... ¿Cómo podemos identificar a que especie corresponden las muestras?

**Objetivo general:** Desarrollar marcadores moleculares para la identificación de especies a partir de ADN de baja calidad.

**Ejercicio 1:** Generar un alineamiento múltiple de secuencias de ADN correspondientes al gen de interés, presente en las especies a identificar. Vamos a trabajar con el gen citocromo oxidasa I (COI).

- A. Descargar programa MEGA: <https://www.megasoftware.net/home>, seleccione su sistema operativo y descargue la última versión. Sigue las instrucciones de instalación proporcionadas por el programa de instalación.
  - B. Abrir el MEGA desde el escritorio o menú de aplicaciones. Familiarizarse con la interfaz principal que incluye menús como File (Archivo), Edit (Editar), View (Ver), Align (Alinear), Phylogeny (Filogenia), Tools (Herramientas) y Help (Ayuda).
  - C. Desplegar la ventana File. Open A File/Session. Abrir el FASTA proporcionado.
  - D. Obtener Secuencias de GenBank para complementar el alineamiento proporcionado. Ve a la página web de GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>). Realiza una búsqueda utilizando términos específicos como nombres de especies (Ej.: “*Ozotoceros bezoarticus* COI”), números de acceso (Ej.: “OR659049.1, OR659050.1 y OR659051.1”) o secuencias relacionadas. Guarda las secuencias de interés en formato FASTA o GenBank para su posterior análisis en MEGA.
  - E. Alinear Secuencias con MUSCLE. Ve a Alignment > Align by MUSCLE > Ventana que indica “alinear todo?” OK. Seleccionar opciones por defecto.
  - F. Identificar los sitios variables entre especies. Dirigirse a la ventana Display > Toggle Conserved Sites > pruebe a distintos niveles. Al 100% se observan mejor las diferencias cuando no hay gaps. Si hay espacios vacíos probar con 50%.
- ¿Existen sitios que separen a las especies y sean conservados dentro de las especies?**
- G. Guardar el proyecto: Utiliza File > Save Project (Guardar Proyecto) para almacenar tu trabajo en formato de proyecto de MEGA.

**Ejercicio 2:** Diseño de cebadores (*primers* en inglés) para amplificar el gen mitocondrial COI.

Utilizar Primer3 para diseñar cebadores específicos basados en secuencias alineadas.

- A. Acceder a Primer3Plus <https://www.primer3plus.com/index.html>
- B. Copiar y pegar la secuencia de referencia en formato FASTA.
- C. Indicar en qué región de la secuencia busca desarrollar los cebadores.

### Ejercicio 3: Evaluación "in silico" de los cebadores diseñados

Existen algunas aplicaciones que permiten probar la efectividad de los cebadores en una PCR antes de realizarla, sin gasto de reactivos, tiempo y/o dinero.

En este práctico, vamos a usar "Silica" y a seguir los pasos que se detallan a continuación:

1) Abrir la web de Silica: <https://www.gear-genomics.com/silica/>

2) Cargar la secuencia fasta de los cebadores.

Ej.: Probar

**AMEL 1F:** 5'- CCCTGGGCTCTGTAAAGAATAGTG -3'

**AMEL 1R:** 5'- ATCAGAGCTTAAACTGGGAAGCTG -3'

3) Seleccionar un Genoma de la lista desplegable. El de *Homo sapiens* sería el más adecuado para este caso.

4) En el resultado podemos ver los distintos sitios de complementariedad con nuestros cebadores y el/los fragmento/s amplificado/s.

## ANEXO

>OK244567.1 *Axis axis* isolate UNGPK006-19 cytochrome c oxidase subunit I (COX1) gene complete cds mitochondrial

```
ATGTTTCGTTAACCGCTGATTGTTTTCAACTAATCATAAAGAGATCGGTACTCTATACCTACTATTTGGTGCTTGA
GCAGGCATAGTAGGTACAGCCTTAAGCCTATTATTTTCGCGCTGAACTAGGCCAACCTGGCACCCCTGCTTGGA
GATGACCAAATTTATAATGTAATCGCACCCGCACATGCATTGTAATTATTTTCTTTATAGTAATACCAATTATAAT
TGGAGGATTTGGTAATTGACTGGTCCCTTAATAATTGGTGCTCCAGATATGGCATTCCCTCGAATAAACAATA
TAAGCTTTTGACTCCTTCCTCCCTCTTTTTACTGCTTCTAGCATCATCTATAATTGAAGCTGGCGCAGGAACA
GGCTGAACTGTATATCCTCCTCTAGCTGGTAATTTAGCTCACGCAGGGGCTTCAGTAGACCTGACTATTTTTT
CTTTACACCTAGCAGGCGTCTCTTCAATTTTAGGGGCCATTAACCTTTATTACAACAATTATCAATATAAAACCCC
CTGCTATGTCACAATAACCAAACCTCCTCTATTTCGTGTGATCCGTAAGTACTGCTGTATTACTGCTTCTTTCCC
TCCCTGTACTAGCGGCCGGAATTACAATATTATTAACAGATCGAAATTTAAATACAACCTTCTTTGATCCAGCGG
GAGGCGGAGACCCTATTTTATACCAACACTTGTCTGATTTTTTGGTCACCCTGAAGTATATATCCTTATTTTAC
CCGTTTCGGTATAATTTCCACATCGTAACATATTACTCAGGAAAAAAGAACCATTCCGGTACATAGGAATG
GTCTGAGCTATAATATCAATTGGATTTCTAGGATTCATCGTTGGAGCCACCATATATTCACAGTTGGAATAGAT
GTTGACACACGAGCCTATTTACATCAGCTACCATGATTATTGCTATCCCAACTGGAGTAAAAGTCTTTAGTTG
ATTAGCAACACTTCACGGAGGCAACATTAATGATCACCTGCTATAATATGAGCTCTAGGCTTTGTTTTCTTTTT
TACAGTTGGAGGCTTAACCGGAATTGTTCTTGCCAACTCTTCTCTAGACATTGTCCTTCATGACACATATTATG
TAGTTGCACATTTCCATTATGACTGTCAATAGGAGCCGATTTGCTATTATAGGAGGGTTTGTTTCATTGATTTT
CATTATTCTCAGGATATACACTCAATGACACATGAGCCAAAATTCACCTTTGTAATTATATTTGTAGGCGTAAATAT
AACTTTCTTTCCACAACATTTCTAGGATTGTCCGGTATGCCACGACGCTATTCTGATTATCCAGACGCATACA
CAATGTGAAATACTATCTCATCCATAGGCTCATTCAATTTCTTTAACAGCAGTTATATTAATAATCTTTATTATCTGA
GAAGCGTTCGCATCCAAACGAGAAGTCTCAATCGTAGAATTAACAACAACAAATTTAGAGTGATTAACGGAT
GCCCTCCGCCATATCATACATTTGAAGAACCTACGTATATTAACCTAAAATAA
```

>OK244568.1 *Axis axis* isolate UNGPK007-19 cytochrome c oxidase subunit I (COX1) gene complete cds mitochondrial

```
ATGTTTCGTTAACCGCTGATTGTTTTCAACTAATCATAAAGAGATCGGTACTCTATACCTACTATTTGGTGCTTGA
GCAGGCATAGTAGGTACAGCCTTAAGCCTATTAATTCGCGCTGAACTAGGCCAACCTGGCACCCCTGCTTGGA
GATGACCAAATTTATAATGTAATCGTAACCGCACATGCATTGTAATAATTTTCTTTATAGTAATACCAATTATAAT
TGGAGGATTTGGTAATTGACTGGTCCCTTAATAATTGGTGCTCCAGATATGGCATTCCCTCGAATAAACAATA
TAAGCTTTTGACTCCTTCCTCCCTCTTTTTACTGCTTCTAGCATCATCTATAATTGAAGCTGGCGCAGGAACA
GGCTGAACTGTATATCCTCCTCTAGCTGGTAATTTAGCTCACGCAGGGGCTTCAGTAGACCTGACTATTTTTT
CTTTACACCTAGCAGGCGTCTCTTCAATTTTAGGGGCCATTAACCTTTATTACAACAATTATCAATATAAAACCCC
CTGCTATGTCACAATAACCAAACCTCCTCTATTTCGTGTGATCCGTAAGTACTGCTGTATTACTGCTTCTTTCCC
TCCCTGTACTAGCGGCCGGAATTACAATATTATTAACAGATCGAAATTTAAATACAACCTTCTTTGATCCAGCGG
GAGGCGGAGACCCTATTTTATACCAACACTTGTCTGATTTTTTGGTCACCCTGAAGTATATATCCTTATTTTAC
```

CCGGTTTCGGTATAATTTCCCACATCGTAACATATTACTCAGGAAAAAAGAACCATTTCGGGTACATAGGAATG  
GTCTGAGCTATAATATCAATTGGATTTCTAGGATTCATCGTTGGAGCCCACCATATATTCACAGTTGGAATAGAT  
GTTGACACACGAGCCTATTTACATCAGCTACCATGATTATTGCTATCCCAACTGGAGTAAAAGTCTTTAGTTG  
ATTAGCAACACTTCACGGAGGCAACATTAATGATCACCTGCTATAATATGAGCTCTAGGCTTTGTTTTCTTTT  
TACAGTTGGAGGCTTAACCGGAATTGTTCTTGCCAACTCTTCTCTAGACATTGTCCTTCATGACACATATTATG  
TAGTTGCACATTTCCATTATGTAATGTAATAGGAGCCGTATTTGCTATTATAGGAGGGTTTGTTTCATTGATTTT  
CATTATTCTCAGGATATACACTCAATGACACATGAGCCAAAATTCACTTTGTAATTATATTTGTAGGCGTAAATAT  
AATTTCTTTCCACAACATTTCTAGGATTGTCCGGTATGCCACGACGCTATTCTGATTATCCAGACGCATACA  
CAATGTGAAATACTATCTCATCCATAGGCTCATTCAATTTCTTTAACAGCAGTTATATTAATAATCTTTATTATCTGA  
GAAGCGTTCGCATCCAAACGAGAAGTCTCAATCGTAGAATTAACAACAACAAATTTAGAGTGATTAACGGAT  
GCCCTCCGCCATATCATACTTTGAAGAACCTACGTATATTAACCTAAAATAA

>OK244569.1 Axis axis isolate UNGPK008-19 cytochrome c oxidase subunit I (COX1) gene complete cds  
mitochondrial

ATGTTTCGTTAACCGCTGATTGTTTTCAACTAATCATAAAGAGATCGGTAATCTATACCTACTATTTGGTGCTTGA  
GCAGGCATAGTAGGTACAGCCTTAAGCCTATTATTTTCGCGCTGAACTAGGCCAACCTGGCACCCCTGCTTGA  
GATGACCAAATTTATAATGTAATCGCACCCGCACATGCATTGTAATTATTTTCTTTATAGTAATACCAATTATAAT  
TGGAGGATTTGGTAATTGACTGGTCCCTTAATAATTGGTGCTCCAGATATGGCATTCCCTCGAATAACAATA  
TAAGCTTTTGACTCCTTCCCTCTTTTTACTGCTTCTAGCATCATCTATAATTGAAGCTGGCGCAGGAACA  
GGCTGAACTGTATATCCTCCTCTAGCTGGTAATTTAGCTCACGCAGGGGCTTCAGTAGACCTGACTATCTTTT  
CTTTACACCTAGCAGCGTCTCTTCAATTTTAGGGGCCATTAACCTTTATTACAACAATTATCAATATAAAACCCC  
CTGCTATGTCACAATACCAAACCTCCTCTATTCGTGTGATCCGTAATCTAGTTACTGCTGTATTACTGCTTCTTTCCC  
TCCCTGTAATAGCGGCCGGAATTACAATATTATAACAGATCGAAATTTAAATACAACCTTCTTTGATCCAGCGG  
GAGGCGGAGACCCTATTTTATAACCAACACTTGTCTGATTTTTTGGTCACCCTGAAGTATATATCCTTATTTTAC  
CCGGTTTCGGTATAATTTCCCACATCGTAACATATTACTCAGGAAAAAAGAACCATTTCGGGTACATAGGAATG  
GTCTGAGCTATAATATCAATTGGATTTCTAGGATTCATCGTTGGAGCCCACCATATATTCACAGTTGGAATAGAT  
GTTGACACACGAGCCTATTTACATCAGCTACCATGATTATTGCTATCCCAACTGGAGTAAAAGTCTTTAGTTG  
ATTAGCAACACTTCACGGAGGCAACATTAATGATCACCTGCTATAATATGAGCTCTAGGCTTTGTTTTCTTTT  
TACAGTTGGAGGCTTAACCGGAATTGTTCTTGCCAACTCTTCTCTAGACATTGTCCTTCATGACACATATTATG  
TAGTTGCACATTTCCATTATGTAATGTAATAGGAGCCGTATTTGCTATTATAGGAGGGTTTGTTTCATTGATTTT  
CATTATTCTCAGGATATACACTCAATGACACATGAGCCAAAATTCACTTTGTAATTATATTTGTAGGCGTAAATAT  
AATTTCTTTCCACAACATTTCTAGGATTGTCCGGTATGCCACGACGCTATTCTGATTATCCAGACGCATACA  
CAATGTGAAATACTATCTCATCCATAGGCTCATTCAATTTCTTTAACAGCAGTTATATTAATAATCTTTATTATCTGA  
GAAGCGTTCGCATCCAAACGAGAAGTCTCAATCGTAGAATTAACAACAACAAATTTAGAGTGATTAACGGAT  
GCCCTCCGCCATATCATACTTTGAAGAACCTACGTATATTAACCTAAAATAA

>OK244570.1 Axis axis isolate UNGPK009-19 cytochrome c oxidase subunit I (COX1) gene complete cds  
mitochondrial

ATGTTTCGTTAACCGCTGATTGTTTTCAACTAATCATAAAGAGATCGGTACTCTATACCTACTATTTGGTGCTTGA  
GCAGGCATAGTAGGTACAGCCTTAAGCCTATTATTTTCGCGCTGAACTAGGCCAACCTGGCACCCTGCTTGG  
GATGACCAAATTTATAATGTAATCGCACCCGCACATGCATTTCGTAATTATTTTCTTTATAGTGATACCAATTATAAT  
AGGAGGATTTGGTAATTGACTGCCTCCCTTAATAATTGGCGCTCCAGATATGGCATTCCCTCGAATAAACAATA  
TAAGCTTATGACTCCCTCCTCCCTTCTTTTTACTGCTTCTAGCATCATCTATAATTGAAGCTGGCGCAGGAACA  
GGCTGAACTGTATATCCTCCTCTAGCTGGTAATTTAGCTCACGCAGGGGCTTCAGTAGACCTGACTATTTTTT  
CTTTACACCTAGCAGGCGTCTCTTCAATTTTAGGGGCCATTAACCTTTATTACAACAATTATCAATATAAAACCCC  
CTGCTATGTCACAATACCAAACCTCCTCTATTTCGTGTGATCCGTAATACTGCTGTATTACTGCTTCTTTCCC  
TCCCTGTAAGTACGCGCCGGAATTACAATATTATTAACAGATCGAAATTTAAATACAACCTTCTTTGATCCAGCGG  
GAGGCGGAGACCCTATTTTATACCAACACTTGTCTGATTTTTTGGTACCCTGAAGTATATATCCTTATTTTAC  
CCGGTTTCGGTATAATTTCCACATCGTAACATATTACTCAGGAAAAAAGAACCATTCCGGGTACATAGGAATG  
GTCTGAGCTATAATATCAATTGGATTTCTAGGATTCATCGTTGGAGCCCACCATATATTCACAGTTGGAATAGAT  
GTTGACACACGAGCCTATTTACATCAGCTACCATGATTATTGCTATCCCAACTGGAGTAAAAGTCTTTAGTTG  
ATTAGCAACACTTCACGGAGGCAACATTAATGATCACCTGCTATAATATGAGCTCTAGGCTTTGTTTTCTTTT  
TACAGTTGGAGGCTTAACCGGAATTGTTCTTGCCAACTCTTCTCTAGACATTGTCCTTCATGACACATATTATG  
TAGTTGCACATTTCCATTATGTAAGTCAATAGGAGCCGATTTGCTATTATAGGAGGGTTTGTTTCATTGATTTT  
CATTATTCTCAGGATATACACTCAATGACACATGAGCCAAAATTCACCTTTGTAATTATATTTGTAGGCGTAAAT  
AACTTTCTTTCCACAACATTTCCCTAGGATTGTCCGGTATGCCACGACGCTATTCTGATTATCCAGACGCATACA  
CAATGTGAAATACTATCTCATCCATAGGCTCATTCAATTTCTTTAACAGCAGTTATATTAATAATCTTTATTATCTGA  
GAAGCGTTCGCATCCAAACGAGAAGTCTCAATCGTAGAATTAACAACAACAAATTTAGAGTGATTAAACGGAT  
GCCCTCCGCCATATCATACATTTGAAGAACCTACGTATATTAACCTTAAATAA

>MT251372.1 Axis axis voucher CHT-L3 cytochrome c oxidase subunit I (COX1) gene partial cds mitochondrial

TACCTACTATTTGGTGCTTGAGCAGGCATAGTAGGTACAGCCTTAAGCCTATTATTTTCGCGCTGAACTAGGCC  
AACCTGGCACCCTGCTTGGAGATGACCAAATTTATAATGTAATCGCACCCGCACATGCATTTCGTAATTATTTT  
TTTATAGTAATACCAATTATAATTGGAGGATTTGGTAATTGACTGGTTCCCTTAATAATTGGTGCTCCAGATATGG  
CATTCCCTCGAATAAACAATATAAGCTTTTACTCCTTCCCTCTTTTTTACTGCTTCTAGCATCATCTATAAT  
TGAAGCTGGCGCAGGAACAGGCTGAACTGTATATCCTCCTCTAGCTGGTAATTTAGCTCACGCAGGGGCTTC  
AGTAGACCTGACTATCTTTTCTTTACACCTAGCAGGCGTCTTCAATTTTAGGGGCCATTAACCTTTATTACAAC  
AATTATCAATATAAAACCCCCTGCTATGTCACAATACCAAACCTCCTCTATTTCGTGTGATCCGTAATACTGCT  
TGTATTACTGCTTCTTTCCCTCCCTGTAAGTACGCGCCGGAATTACAATATTATTAACAGATCGAAATTTAAATAC  
AACCTTCTTTGATCCAGCGGGAGGCGGAGACCCTATTTTATACCAACACTTGTCTGATTTTTTGGTACCCT  
GAAGTATATATCCTTATTTTACCCGGTTTCGGTATAATTTCC

>MG742689.1 Axis axis voucher PBRC-CHT M4f36 cytochrome c oxidase subunit I (COX1) gene partial cds mitochondrial

TACCTACTATTTGGTGCTTGAGCAGGCATAGTAGGTACAGCCTTAAGCCTATTATTTTCGCGCTGAACTAGGCC  
AACCTGGCACCCTGCTTGGAGATGACCAAATTTATAATGTAATCGCACCCGCACATGCATTTCGTAATTATTTT

TTTATAGTAATACCAATTATAATTGGAGGATTTGGTAATTGACTGGTTCCTTAATAATTGGTGCTCCAGATATGG  
CATTCCCTCGAATAAACAATATAAGCTTTTGACTCCTTCCTCCCTCTTTTTTACTGCTTCTAGCATCATCTATAAT  
TGAAGCTGGCGCAGGAACAGGCTGAACTGTATATCCTCCTCTAGCTGGTAATTTAGCTCACGCAGGGGCTTC  
AGTAGACCTGACTATTTTTTCTTTACACCTAGCAGGCGTCTCTTCAATTTTAGGGGCCATTAACTTTATTACAAC  
AATTATCAATATAAAACCCCCTGCTATGTCACAATACCAAACCTCCTCTATTTCGTGTGATCCGTAAGTTACTGC  
TGTATTACTGCTTCTTTCCCTCCCTGACTAGCGGCCGGAATTACAATATTATTAACAGATCGAAATTTAAATAC  
AACCTTCTTTGATCCAGCGGGAGGCGGAGACCCTATTTTATACCAACACTTGTTCTGATTTTTTGGTCACCCT  
GAAGTATATATCCTTATTTTACCCGGTTTCGGTATAATTC

>MT251373.1 Axis axis voucher CHT-L4 cytochrome c oxidase subunit I (COX1) gene partial cds mitochondrial

TACCTACTATTTGGTGCTTGAGCAGGCATAGTAGGTACAGCCTTAAGCCTATTATTTTCGCGCTGAACTAGGCC  
AACCTGGCACCCCTGCTTGGAGATGACCAAATTTATAATGTAATCGCACCCGCACATGCATTCGTAATTATTTTC  
TTTATAGTGATACCAATTATAATAGGAGGATTTGGTAATTGACTGCCTCCCTTAATAATTGGCGCTCCAGATATG  
GCATTCCCTCGAATAAACAATATAAGCTTATGACTCCCTCCTCCCTCTTTTTTACTGCTTCTAGCATCATCTATA  
ATTGAAGCTGGCGCAGGAACAGGCTGAACTGTATATCCTCCTCTAGCTGGTAATTTAGCTCACGCAGGGGCT  
TCAGTAGACCTGACTATTTTTTCTTTACACCTAGCAGGCGTCTCTTCAATTTTAGGGGCCATTAACTTTATTACA  
ACAATTATCAATATAAAACCCCCTGCTATGTCACAATACCAAACCTCCTCTATTTCGTGTGATCCGTAAGTTACT  
GCTGTATTACTGCTTCTTTCCCTCCCTGACTAGCGGCCGGAATTACAATATTATTAACAGATCGAAATTTAAAT  
ACAACCTTCTTTGATCCAGCGGGAGGCGGAGACCCTATTTTATACCAACACTTGTTCTGATTTTTTGGTCACC  
CTGAAGTATATATCCTTATTTTACCCGGTTTCGGTATAATT

>GBMA14705-17|Axis axis|COI-5P|KT372098

ATGTTTCGTTAACCGCTGATTGTTTTCAACTAATCATAAAGATATCGGTACTCTATACCTACTATTTGGTGCTTGA  
GCAGGCATAGTAGGTACAGCCTTAAGCCTATTAATTCGCGCTGAACTAGGCCAACCTGGCACCCCTGCTTGG  
GATGACCAAATTTATAATGTAATCGTAACCGCACATGCATTCGTAATAATTTCTTTATAGTAATACCAATTATAAT  
TGGAGGATTTGGTAATTGACTGGTTCCTTAATAATTGGTGCTCCAGATATGGCATTCCCTCGAATAAACAATA  
TAAGCTTTTACTCCTTCCTCCCTCTTTTTTACTGCTTCTAGCATCATCTATAATTGAAGCTGGCGCAGGAACA  
GGCTGAACTGTATATCCTCCTCTAGCTGGTAATTTAGCTCACGCACGGGCTTCAGTAGACCTGACTATTTTTTC  
TTTACACCTAGCAGGCGTCTCTTCAATTTTAGGGGCCATTAACTTTATTACAACAATTATCAATATAAAACCCC  
TGCTATGTCACAATACCAAACCTCCTCTATTTCGTGTGATCCGTAAGTTACTGCTGTATTACTGCTTCTTTCCCT  
CCCTGACTAGCGGCCGGAATTACAATATTATTAACAGATCGAAATTTAAATACAACCTTCTTTGATCCAGCGG  
GAGGCGGAGACCCTATTTTATACCAACACTTGTTCTGATTTTTTGGTCACCCTGAAGTATATATCCTTATTTTAC  
CCGGTTTCGGTATAATTTCCACATCGTAACATATTACTCAGGAAAAAAGAACCATTCCGGGTACATAGGAATG  
GTCTGAGCTATAATATCAATTGGATTTCTAGGATTCATCGTATGAGCCCACCATATATTCACAGTTGGAATAGAT  
GTTGACACACGAGCCTATTTACATCAGCTACCATGATTATTGCTATCCCAACTGGAGTAAAAGTCTTTAGTTG  
ATTAGCAACACTTCACGGAGGCAATATTAATGATCACCTGCCATAATATGAGCTTTAGGCTTTATTTTCCCTTT  
TACAGTTGGAGGCTTAACCGGAATTGTTCTTGCCAACTCTTCTCTAGACATTGTCCTTCATGACACATATTATG  
TAGTTGCACATTTCCATTATGACTGTCAATAGGAGCCGATTTGCTATTATAGGAGGGTTTGTTTCATTGATTTTC



CATTATTCTCAGGATATACACTCAATGACACATGAGCCAAAATTCACCTTTGTAATTATATTTGTAGGCGTAAATAT  
AACTTTCTTTCCACAACATTTCTAGGATTGTCCGGTATGCCACGACGCTATTCTGATTATCCAGACGCATACA  
CAATGTGAAATACCATCTCATCCATAGGCTCATTCAATTTCTTTAACAGCAGTTATATTAATAATCTTTATTATCTGA  
GAAGCGTTCGCATCCAAACGAGAAGTCTCAATCGTAGAATTAACAACAACAAATTTAGAGTGATTAAACGGAT  
GCCCTCCGCCATATCATACATTTGAAGAACCTACGTATATTAACCTTAAATAA

>GBMA26084-19|Axis axis|COI-5P|MG742689

TACCTACTATTTGGTGCTTGAGCAGGCATAGTAGGTACAGCCTTAAGCCTATTATTTTCGCGCTGAACTAGGCC  
AACCTGGCACCCCTGCTTGAGATGACCAAATTTATAATGTAATCGCACCCGCACATGCATTCGTAATTATTTTC  
TTTATAGTAATACCAATTATAATTGGAGGATTTGGTAATTGACTGGTTCCTTAATAATTGGTGCTCCAGATATGG  
CATTCCCTCGAATAAACAATATAAGCTTTTGACTCCTTCCCTCTTTTTTACTGCTTCTAGCATCATCTATAAT  
TGAAGCTGGCGCAGGAACAGGCTGAACTGTATATCCTCCTCTAGCTGGTAATTTAGCTCACGCAGGGGCTTC  
AGTAGACCTGACTATTTTTCTTTACACCTAGCAGGCGTCTCTTCAATTTAGGGGCCATTAACCTTTATTACAAC  
AATTATCAATATAAAACCCCTGCTATGTCACAATACCAAACCTCCTCTATTTCGTGTGATCCGTACTAGTTACTGC  
TGTATTACTGCTTCTTTCCCTCCCTGACTAGCGGCCGGAATTACAATATTATTAACAGATCGAAATTTAAATAC  
AACCTTCTTTGATCCAGCGGGAGGCGGAGACCCTATTTTATACCAACACTTGTCTGATTTTTTGGTCACCCT  
GAAGTATATATCCTTATTTTACCCGGTTTCGGTATAATTTTC

>GBMNA13650-19|Axis axis|COI-5P|JN632599

ATGTTTCGTTAACCGCTGATTGTTTTCAACTAATCATAAAGATATCGGTACTCTATACCTACTATTTGGTGCTTGA  
GCAGGCATAGTAGGTACAGCCTTAAGCCTATTAATTCGCGCTGAACTAGGCCAACCTGGCACCCCTGCTTGG  
GATGACCAAATTTATAATGTAATCGTAACCGCACATGCATTCGTAATAATTTCTTTATAGTAATACCAATTATAAT  
TGGAGGATTTGGTAATTGACTGGTTCCTTAATAATTGGTGCTCCAGATATGGCATTCCCTCGAATAAACAATA  
TAAGCTTTTGACTCCTTCCCTCTTTTTTACTGCTTCTAGCATCATCTATAATTGAAGCTGGCGCAGGAACA  
GGCTGAACTGTATATCCTCCTCTAGCTGGTAATTTAGCTCACGCAGGGGCTTCAGTAGACCTGACTATTTTTT  
CTTTACACCTAGCAGGCGTCTCTTCAATTTTAGGGGCCATTAACCTTTATTACAACAATTATCAATATAAAACCC  
CTGCTATGTCACAATACCAAACCTCCTCTATTTCGTGTGATCCGTACTAGTTACTGCTGTATTACTGCTTCTTTCC  
TCCCTGACTAGCGGCCGGAATTACAATATTATTAACAGATCGAAATTTAAATACAACCTTCTTTGATCCAGCGG  
GAGGCGGAGACCCTATTTTATACCAACACTTGTCTGATTTTTTGGTCACCCTGAAGTATATATCCTTATTTTAC  
CCGGTTTCGGTATAATTTCCACATCGTAACATATTACTCAGGAAAAAAGAACCATTCCGGGTACATAGGAATG  
GTCTGAGCTATAATATCAATTGGATTTCTAGGATTCATCGTATGAGCCACCATATATTCACAGTTGGAATAGAT  
GTTGACACACGAGCCTATTTACATCAGCTACCATGATTATTGCTATCCCAACTGGAGTAAAAGTCTTTAGTTG  
ATTAGCAACACTTCACGGAGGCAATATTAATGATCACCTGCCATAATATGAGCTTTAGGCTTTATTTTCTTTT  
TACAGTTGGAGGCTTAACCGGAATTGTTCTTGCCAACTCTTCTCTAGACATTGTCCTTCATGACACATATTATG  
TAGTTGCACATTTCCATTATGACTGTCAATAGGAGCCGTATTTGCTATTATAGGAGGGTTTGTTTCATTGATTT  
CATTATTCTCAGGATATACACTCAATGACACATGAGCCAAAATTCACCTTTGTAATTATATTTGTAGGCGTAAATAT  
AACTTTCTTTCCACAACATTTCTAGGATTGTCCGGTATGCCACGACGCTATTCTGATTATCCAGACGCATACA  
CAATGTGAAATACTATCTCATCCATAGGCTCATTCAATTTCTTTAACAGCAGTTATATTAATAATCTTTATTATCTGA

GAAGCGTTCGCATCCAAACGAGAAGTCTCAATCGTAGAATTAACAACAACAAATTTAGAGTGATTAAACGGAT  
GCCCTCCGCCATATCATAATTTGAAGAACCTACGTATATTAACCTAAAA

>ABGYB437-06|Subulo gouazoubira|COI-5P|JF459199

ACCTTATACTTACTATTTGGTGCTTGAGCAGGCATAGTGGGGACTGCCCTGAGCCTACTAATTCGTGCTGAAT  
TAGGCCAACCCGGTACTTTACTCGGAGACGATCAAATTTATAATGTAATTGTAACCGCACATGCATTTGTAATAA  
TTTTCTTTATAGTTATACCAATCATAATTGGAGGGTTTGGTAATTGACTTGTTCCATTAATAATTGGTGCCCCAGA  
TATAGCATTTCCCCGAATAAATAATATAAGCTTTTGACTTCTTCCCCCTTCTTTTTACTACTTCTAGCATCATCT  
ATAGTTGAAGCTGGAGCAGGAACAGGTTGAACTGTCTATCCCCCTTTAGCTGGCAACCTAGCCCATGCAGGA  
GCTTCAGTTGACTTAACTATCTTTTCTCTACATTTGGCAGGCATTTCTCAATTTAGGGGGCAATTAACCTTTATT  
ACAACAATTATCAATATAAAACCCCTGCCATATCACAATATCAGACCCCTTTATTTCGTATGATCCGTACTAATTA  
CTGCAGTACTATTACTTCTCTCACTCCCTGTACTAGCAGCCGGAATTACAATACTATTAACAGACCCGAAACCTA  
AATACAACCTTTCTTCGATCCTGCAGGGGGCGGAGACCCTATTCTATATCAACACTTATTC

>ABGYC625-06|Subulo gouazoubira|COI-5P|JF459200

ACNTTATACTTACTATTTGGTGCTTGAGCAGGCATAGTGGGGACTGCCCTAAGCCTACTAATTCGTGCTGAATT  
AGGCCAACCCGGTACTTTACTCGGAGACGATCAAATTTATAATGTAATTGTAACCGCACATGCATTTGTAATAAT  
TTTCTTTATAGTTATACCAATCATAATTGGAGGGTTTGGTAATTGACTTGTTCCATTAATAATTGGTGCCCCAGAT  
ATAGCATTTCCCCGAATAAATAATATAAGCTTTTGACTTCTTCCCCCTTCTTTTTACTACTTCTAGCATCATCTA  
TAGTTGAAGCTGGAGCAGGAACAGGTTGAACTGTCTATCCTCCTTTAGCTGGCAACCTAGCCCATGCAGGAG  
CTTCAGTTGACTTAACTATCTTTTCTCTACATTTGGCAGGCATTTCTCAATTTAGGGGGCAATTAACCTTTATTA  
CAACAATTATCAATATAAAACCCCTGCCATATCACAATATCAGACCCCTTTATTTCGTATGATCCGTACTAATTAC  
TGCAGTACTATTACTTCTCTCACTCCCTGTACTAGCAGCCGGAATTACAATACTATTAACAGACCCGAAACCTAA  
ATACAACCTTTCTTCGATCCTGCAGGGGGCGGAGACCCTATTCTATATCAACACTTATTC

>ABGYG1240-08|Subulo gouazoubira|COI-5P|JF459198

ACCTTATACTTACTATTTGGTGCTTGAGCAGGCATAGTGGGGACTGCCCTAAGCCTACTAATTCGTGCTGAATT  
AGGCCAACCCGGTACTTTACTCGGAGACGATCAAATTTATAATGTAATTGTAACCGCACATGCATTTGTAATAAT  
TTTTCTTTATAGTTATACCAATCATAATTGGAGGGTTTGGTAATTGACTTGTTCCATTAATAATTGGTGCCCCAGAT  
ATAGCATTTCCCCGAATAAATAATATAAGCTTTTGACTTCTTCCCCCTTCTTTTTACTACTTCTAGCATCATCTA  
TAGTTGAAGCTGGAGCAGGAACAGGTTGAACTGTCTATCCCCCTTTAGCTGGCAACCTAGCCCATGCAGGA  
GCTTCAGTTGACTTAACTATCTTTTCTCTACATTTGGCAGGCATTTCTCAATTTAGGGGGCAATTAACCTTTATT  
ACAACAATTATCAATATAAAACCCCTGCCATATCACAATATCAGACCCCTTTATTTCGTATGATCCGTACTAATTA  
CTGCAGTACTATTACTTCTCTCACTCCCTGTTCTAGCAGCCGGAATTACAATACTATTAACAGACCCGAAACCTA  
AATACAACCTTTCTTCGATCCTGCAGGGGGCGGAGACCCTATTCTATATCAACACTTATTC

>GBMA9137-15|Subulo gouazoubira|COI-5P|KJ772514

ATGTTCAATTAACCGCTGACTATTTTCAACTAATCACAAAGATATTGGTACCCTATATTTACTATTCCGGTGCTTGAG  
CAGGCATAGTAGGAACTGCCCTAAGCCTACTAATCCGTGCTGAACTGGGTCAACCCGGTACTCTACTCGGAG  
ATGACCAAATTTATAATGTAATTGTCACCGCACATGCATTTGTGATAATTTTCTTTATAGTTATAACCAATTATAATC  
GGAGGATTTGGTAATTGACTTGTCCCCTTAATAATTGGTGCTCCAGATATAGCATTCCCTCGAATAAATAACATA  
AGCTTTTGACTTCTACCCCCTTCATTTTTACTACTTCTAGCATCATCTATAGTTGAAGCCGGAGCAGGGACAGG  
TTGAACTGTCTATCCCCCTTAGCTGGCAATCTAGCTCACGCAGGAGCCTCAGTTGACTTAACTATCTTTTCC  
CTACATTTAGCAGGCATTTCTTCAATTTTAGGGGCTATTAACTTTATTACAACAATTATCAATATAAAACCCCCTG  
CCATATCACAAATATCAGACTCCCTTATTCGTCTGATCTGACTAATTACTGCAGTACTACTGCTCCTTTCACTTC  
CTGTATTAGCAGCCGGAATTACAATATTATTAACAGACCGAAATCTAAATACAACCTTTTTCGATCCAGCAGGA  
GGTGGGATCCTATTTTATATCAGCACTTATTCTGATTTTTGGACACCCTGAAGTATACATTCTTATCTTACCT  
GGATTTGGTATAATTTCTCACATCGTAACCTATTATTCGGGGAAAAAGAACCATTTGGGTATATAGGAATAGTC  
TGAGCTATAATATCAATTGGATTTTTAGGATTTATTGTATGAGCCCACCACATATTTACAGTTGGAATAGACGTTG  
ATACACGAGCCTATTTTACATCAGCTACTATAATTATTGCTATTCCAACCCGGAGTAAAAGTATTTAGTTGACTAGC  
AACACTTCATGGAGGCAACATTAAATGATCACCTGCCATAATATGAGCTTTAGGTTTTATTTTTCTTTTTACAGT  
TGGGGGACTAACTGGAATTGTTCTTGCTAATTTCTCCCTTGACATTGTTCTTCACGATACTTATTACGTAGTTG  
CACATTTCCACTATGTTTTATCAATGGGGGCTGTATTTGCTATTATAGGAGGATTTGTGCACTGATTCCCCTAT  
TCTCAGGATATACCCTTAATGATACATGAGCTAAAATCCATTTGTAATTATATTTGTAGGTGTGAATATAACCTTT  
TTTCCACAACATTTCTTAGGATTATCTGGTATGCCACGACGATATTCTGACTACCCAGACGCATACACAATGTG  
AAATACAATTTCTTCTATAGGCTCATTATTTCTCTAACAGCAGTTATACTAATAATTTTTATTATCTGAGAAGCAT  
TCGCATCTAAACGAGAAGTCTCAACCGTAGAATTAACAACAACAATTTAGAGTGACTAAATGGATGTCCTCCA  
CCATACCATACATTTGAAGAACCTACATACATCAACTTAAAA

>GBMNA13691-19|Subulo gouazoubira|COI-5P|JN632658

ATGTTCAATTAACCGCTGACTATTTTCAACTAATCACAAAGATATTGGTACCCTATATTTATTATTCCGGTGCTTGAG  
CAGGCATAGTAGGAACTGCCCTAAGCCTACTAATCCGTGCTGAACTGGGTCAACCCGGTACTCTACTCGGAG  
ATGACCAAATTTATAATGTAATTGTCACCGCACATGCATTTGTGATAATTTTCTTTATAGTTATAACCAATTATAATC  
GGAGGATTTGGTAATTGACTTGTCCCCTTAATAATTGGTGCTCCAGATATAGCATTCCCTCGAATAAATAACATA  
AGCTTTTGACTTCTACCCCCTTCATTTTTACTACTTCTAGCATCATCTATAGTTGAAGCCGGAGCAGGGACAGG  
TTGAACTGTCTATCCCCCTTAGCTGGCAATCTAGCTCACGCAGGAGCCTCAGTTGACTTAACTATCTTTTCC  
CTACATTTAGCAGGCATTTCTTCAATTTTAGGGGCTATTAACTTTATTACAACAATTATCAATATAAAACCCCCTG  
CCATATCACAAATATCAGACCCCCTTATTCGTCTGATCTGACTAATTACTGCAGTACTACTGCTCCTTTCACTTC  
CTGTATTAGCAGCCGGAATTACAATATTATTAACAGACCGAAATCTAAATACAACCTTTTTCGATCCAGCAGGA  
GGTGGAGATCCTATTTTATATCAGCACTTATTCTGATTTTTGGACACCCTGAAGTATACATTCTTATCTTACCTG  
GATTTGGTATAATTTCTCACATCGTAACCTATTATTCGGGGAAAAAGAACCATTTGGGTATATAGGAATAGTCT  
GAGCTATAATATCAATTGGATTTTTAGGATTTATTGTATGAGCCCACCACATATTTACAGTTGGAATAGACGTTG  
ATACACGAGCCTATTTTACATCAGCTACTATAATTATTGCTATTCCAACCCGGAGTAAAAGTATTTAGTTGACTAGC  
AACACTTCATGGAGGCAACATTAAATGATCACCTGCCATAATATGAGCTTTAGGTTTTATTTTTCTTTTTACAGT  
TGGGGGACTAACTGGAATTGTTCTTGCCAATTTCTCCCTTGACATTGTTCTTCACGATACTTATTACGTAGTTG  
CACATTTCCACTATGTTTTATCAATGGGGGCTGTATTTGCTATTATAGGAGGATTTGTGCACTGATTCCCCTAT

TCTCAGGATATACCCTTAATGATACATGAGCTAAAATCCATTTTGTAAATTATATTTGTAGGTGTGAATATAACCTTT  
TTTCCACAACATTTCCCTAGGATTATCTGGTATGCCACGACGATATTCTGACTACCCAGACGCATATACAATGTG  
AAATACAATTTCTTCTATAGGCTCATTATTTCTCTAACAGCAGTTATACTAATAATTTTTATTATCTGAGAAGCAT  
TCGCATCTAAACGAGAAGTCTCAACCGTAGAATTAACAACAACAATTTAGAGTGACTAAATGGATGTCCTCCA  
CCATACCATACATTTGAAGAACCTACATACATCAACTTAAAA

>GBMTG2789-16|Subulo gouazoubira|COI-5P|NC 020720

ATGTTCATTAACCGCTGACTATTTCAACTAATCACAAAGATATTGGTACCCTATATTTATTATTTCGGTGCTTGAG  
CAGGCATAGTAGGAACTGCCCTAAGCCTACTAATCCGTGCTGAACTGGGTCAACCCGGTACTCTACTCGGAG  
ATGACCAAATTTATAATGTAATTGTCACCGCACATGCATTTGTGATAATTTTCTTTATAGTTATAACCAATTATAATC  
GGAGGATTTGGTAATTGACTTGTCCCCTTAATAATTGGTGCTCCAGATATAGCATTCCCTCGAATAAATAACATA  
AGCTTTTGACTTCTACCCCCTTCATTTTTACTACTTCTAGCATCATCTATAGTTGAAGCCGGAGCAGGGACAGG  
TTGAACTGTCTATCCCCCTTTAGCTGGCAATCTAGCTCACGCAGGAGCCTCAGTTGACTTAACTATCTTTTCC  
CTACATTTAGCAGGCATTTCTTCAATTTTAGGGGCTATTAACCTTTATTACAACAATTATCAATATAAAAACCCCTG  
CCATATCACAATATCAGACCCCCTTATTCGTCTGATCTGACTAATTACTGCAGTACTACTGCTCCTTTCACTTC  
CTGTATTAGCAGCCGGAATTACAATATTATTAACAGACCGAAATCTAAATACAACCTTTTTTCGATCCAGCAGGA  
GGTGGAGATCCTATTTTATATCAGCACTTATTCTGATTTTTTGGACACCCTGAAGTATACATTCTTATCTTACCTG  
GATTTGGTATAATTTCTCACATCGTAACCTATTATTCGGGGAAAAAGAACCATTTGGGTATATAGGAATAGTCT  
GAGCTATAATATCAATTGGATTTTTAGGATTTATTGTATGAGCCCACCACATATTTACAGTTGGAATAGACGTTG  
ATACACGAGCCTATTTTACATCAGCTACTATAATTATTGCTATTCCAACCGGAGTAAAAGTATTTAGTTGACTAGC  
AACACTTCATGGAGGCAACATTAATGATCACCTGCCATAATATGAGCTTTAGGTTTTATTTTTCTTTTTACAGT  
TGGGGGACTAACTGGAATTGTTCTTGCCAATTCTTCCCTTGACATTGTTCTTCACGATACTTATTACGTAGTTG  
CACATTTCCACTATGTTTTATCAATGGGGGCTGATTTGCTATTATAGGAGGATTTGTGCACTGATTCCCCTAT  
TCTCAGGATATACCCTTAATGATACATGAGCTAAAATCCATTTTGTAAATTATATTTGTAGGTGTGAATATAACCTTT  
TTTCCACAACATTTCCCTAGGATTATCTGGTATGCCACGACGATATTCTGACTACCCAGACGCATATACAATGTG  
AAATACAATTTCTTCTATAGGCTCATTATTTCTCTAACAGCAGTTATACTAATAATTTTTATTATCTGAGAAGCAT  
TCGCATCTAAACGAGAAGTCTCAACCGTAGAATTAACAACAACAATTTAGAGTGACTAAATGGATGTCCTCCA  
CCATACCATACATTTGAAGAACCTACATACATCAACTTAAAA

>ABMC187-05|Ovis aries|COI-5P|JF443355

ACCCTTTACCTTCTATTTGGTGCCTGAGCTGGTATAGTAGGAACCGCCTTAAGCCTACTAATTCGCGCCGAAC  
TAGGCCAACCCGGAACCTACTCGGAGATGACCAAATCTACAACGTAATTGTAACCGCACATGCATTTGTAAT  
AATTTCTTTATAGTAATGCCTATTATAATCGGTGGATTTCGGCAACTGACTAGTTCCCTCTGATAATTGGAGCCCC  
TGATATAGCATTTCCTCGGATAAATAACATAAGCTTTTGACTTCTTCCCCCATCTTTCTGTTACTCCTAGCATC  
CTCTATGGTTGAGGCCGGAGCAGGAACAGGTTGAACCGTATACCCTCCTCTAGCAGGCAACCTAGCCCATG  
CAGGAGCCTCAGTAGATCTAACTATTTTCTCCCTACATCTGGCAGGTGTCTCTTCAATTCTAGGAGCCATTAAT  
TTTATTACAACCTATTATTAATATAAAAACCCCTGCGATGTCACAGTATCAAACCCCTTGTTTGTATGATCTGTAC

TAATTACTGCCGTA CTCTCCCTTCTCTCACTTCCTGTATTAGCAGCTGGTATCACAATACTACTAACGGACCGA AACCTGAATACAACCTTTTTTTGACCCAGCAGGAGGAGACCCTATCCTATATCAACACCTATTTC

>ACLB043-06|Ovis aries|COI-5P|HM102308

NNCCCGG AACTCTACTCGGAGATGACCAAATCTACAACGTAATTGTAACCGCACATGCATTTGTAATAATTTTCTTTATAGT AATGCCTATTATAATCGGTGGATTTCGGCAACTGACTAGTTCCTCTGATAATTGGAGCCCCTGATATAGCATTTC CTCGGATAAATAACATAAGCTTTTGACTTCTTCCCCCATCTTTCCTGTACTCCTAGCATCCTCTATGGNNGAG GCCGGAGCAGGAACAGGTTGAACCGTATACCCTCCTCTAGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCCTCAGT AGATCTAACTATTTTCTCCCTACATCTGGCAGGTGTCTCTTCAATTCTAGGAGCCATTAATTTTATTACAACCTATT ATTAATATAAAACCCCTGCGATGTCACAGTATCAAACCCCTTGTTTGTATGATCTGTACTAATTACTGCCGTA CTTCTCCTTCTCTCACTTCCTGTATTAGCAGCTGGTATCACAATACTACTAACGGACCGAAACCTGAATACAAC CTTTTTTGACCCAGCAGGAGGAGACCCTATCCTATATCAACACCTATTTC

>CSCVS069-10|Ovis aries|COI-5P

CCTTTACCTTCTATTTGGTGCCTGAGCTGGTATAGTAGGAACCGCCTTAAGCCTACTAATTCGCGCCGA ACTA GGCCAACCCGGA ACTCTACTCGGAGATGACCAAATCTACAACGTAATTGTAACCGCACATGCATTTGTAATAA TTTTCTTTATAGTAATGCCTATTATAATCGGTGGATTTCGGCAACTGACTAGTTCCTCTGATAATTGGAGCCCCTG ATATAGCATTTCTCGGATAAATAACATAAGCTTTTGACTTCTTCCCCCATCTTTCCTGTACTCCTAGCATCCT CTATGGTTGAGGCCGGAGCAGGAACAGGTTGAACCGTATACCCTCCTCTAGCAGGCAACCTAGCCCATGCA GGAGCCTCAGTAGATCTAACTATTTTCTCCCTACATCTGGCAGGTGTCTCTTCAATTCTAGGAGCCATTAATTT TATTACAACCTATTATTAATAAAACCCCTGCGATGTCACAGTATCAAACCCCTTGTTTGTATGATCTGTACTA ATACTGCCGTA CTCTCCTTCTCTCACTTCCTGTATTAGCAGCTGGTATCACAATACTACTAACGGACCGAAA CCTGAATACAACCTTTTTTTGACCCAGCAGGAGGAGACCCTATCCTATATCAACACCTATTTC

>CSCVS070-10|Ovis aries|COI-5P

CCTTTACCTTCTATTTGGTGCCTGAGCTGGTATAGTAGGAACCGCCTTAAGCCTACTAATTCGCGCCGA ACTA GGCCAACCCGGA ACTCTACTCGGAGATGACCAAATCTACAACGTAATTGTAACCGCACATGCATTTGTAATAA TTTTCTTTATAGTAATGCCTATTATAATCGGTGGATTTCGGCAACTGACTAGTTCCTCTGATAATTGGAGCCCCTG ATATAGCATTTCTCGGATAAATAACATAAGCTTTTGACTTCTTCCCCCATCTTTCCTGTACTCCTAGCATCCT CTATGGTTGAGGCCGGAGCAGGAACAGGTTGAACCGTATACCCTCCTCTAGCAGGCAACCTAGCCCATGCA GGAGCCTCAGTAGATCTAACTATTTTCTCCCTACATCTGGCAGGTGTCTCTTCAATTCTAGGAGCCATTAATTT TATTACAACCTATTATTAATAAAACCCCTGCGATGTCACAGTATCAAACCCCTTGTTTGTATGATCTGTACTA ATACTGCCGTA CTCTCCTTCTCTCACTTCCTGTATTAGCAGCTGGTATCACAATACTACTAACGGACCGAAA CCTGAATACAACCTTTTTTTGACCCAGCAGGAGGAGACCCTATCCTATATCAACACCTATTTC

>CYTC2978-12|Ovis aries|COI-5P|HM236174

CACAAAGATATCGGCACCCTTTACCTTCTATTTGGTGCCTGAGCTGGTATAGTAGGAACCGCCTTAAGCCTAC  
TAATTCGCGCCGAACTAGGCCAACCCGGAACCTCTACTCGGAGATGACCAAATCTACAACGTAATTGTAACCG  
CACATGCATTTGTAATAATTTTCTTTATAGTAATGCCTATTATAATCGGTGGATTTGGCAACTGACTAGTTCCTCT  
GATAATTGGAGCCCCTGATATAGCATTTCCTCGGATAAATAACATAAGCTTTTGACTTCTTCCCCCATCTTTCT  
GTTACTCCTAGCATCCTCTATGGTTGAGGCCGGAGCAGGAACAGGTTGAACCGTATACCCTCCTCTAGCAGG  
CAACCTAGCCCATGCAGGAGCCTCAGTAGATCTAACTATTTTCTCCCTACACCTGGCAGGTGTCTCTTCAATT  
CTAGGAGCCATTAATTTTATTACAACCTATTATTAATATAAAAACCCCTGCGATGTCACAGTATCAAACCCCTTGT  
TTGTATGATCTGTACTAATTACTGCCGTACTTCTCCTTCTCTCACTTCTGTATTAGCAGCTGGTATCACAATAC  
TACTAACGGACCGAAACCTGAATACAACCTTTTTTGACCCAGCAGGAGGAGGAGACCCTATCCTATATCAACA  
CCTATTCTGATTCTTTGGGCACCCTGAAGTATATATTCTTATTTTACCTGGGTTTGGGATAATCTCCCATATTGT  
GACCTACTATTCAGGAAAAAAGAACCATTTCGGATATATAGGAATAGTATGAGCCATAATATCAATTGGGTTCT  
AGGATTCATTGTATGAGCCCACCATATATTCACAGTCGGAATAGACGTCGATACACGGGCTTACTTCACGTCA  
GCTACTATAATTATTGCCATCCCAACAGGAGTAAAAGTATTCAGTTGACTAGCAACGCTTCATGGGGGT

>CYTC2979-12|Ovis aries|COI-5P|HM236175

CACAAAGATATCGGCACCCTTTACCTTCTATTTGGTGCCTGAGCTGGTATAGTAGGAACCGCCTTAAGCCTAC  
TAATTCGCGCCGAACTAGGCCAACCCGGAACCTCTACTCGGAGATGACCAAATCTACAACGTAATTGTAACCG  
CACATGCATTTGTAATAATTTTCTTTATAGTAATGCCTATTATAATCGGTGGATTTGGCAACTGACTAGTTCCTCT  
GATAATTGGAGCCCCTGATATAGCATTTCCTCGGATAAATAACATAAGCTTTTGACTTCTTCCCCCATCTTTCT  
GTTACTCCTAGCATCCTCTATGGTTGAGGCCGGAGCAGGAACAGGTTGAACCGTATACCCTCCTCTAGCAGG  
CAACCTAGCCCATGCAGGAGCCTCAGTAGATCTAACTATTTTCTCCCTACACCTGGCAGGTGTCTCTTCAATT  
CTAGGAGCCATTAATTTTATTACAACCTATTATTAATATAAAAACCCCTGCGATGTCACAGTATCAAACCCCTTGT  
TTGTATGATCTGTACTAATTACTGCCGTACTTCTCCTTCTCTCACTTCTGTATTAGCAGCTGGTATCACAATAC  
TACTAACGGACCGAAACCTGAATACAACCTTTTTTGACCCAGCAGGAGGAGGAGACCCTATCCTATATCAACA  
CCTATTCTGATTCTTTGGGCACCCTGAAGTATATATTCTTATTTTACCTGGGTTTGGGATAATCTCCCATATTGT  
GACCTACTATTCAGGAAAAAAGAACCATTTCGGATATATAGGAATAGTATGAGCCATAATATCAATTGGGTTCT  
AGGATTCATTGTATGAGCCCACCATATATTCACAGTCGGAATAGACGTCGATACACGGGCTTACTTCACGTCA  
GCTACTATAATTATTGCCATCCCAACAGGAGTAAAAGTATTCAGTTGACTAGCAACGCTTCATGGGGGT

>CYTC2980-12|Ovis aries|COI-5P|HM236176

ATGTTTCATCAACCGCTGATTATTTTCAACCAACCACAAAGATATCGGCACCCTTTACCTTCTATTTGGTGCCTG  
AGCTGGTATAGTAGGAACCGCCTTAAGCCTACTAATTCGCGCCGAACTAGGCCAACCCGGAACCTCTACTCGG  
AGATGACCAAATCTACAACGTAATTGTAACCGCACATGCATTTGTAATAATTTTCTTTATAGTAATGCCTATTATA  
ATCGGTGGATTCGGCAACTGACTAGTTCCTCTGATAATTGGAGCCCCTGATATAGCATTTCCTCGGATAAATAA  
CATAAGCTTTTGACTTCTTCCCCCATCTTTCTGTTACTCCTAGCATCCTCTATGGTTGAGGCCGGAGCAGGA  
ACAGGTTGAACCGTATACCCTCCTCTAGCAGGCAACCTAGCCCATGCAGGAGCCTCAGTAGATCTAACTATTT  
TCTCCCTACATCTGGCAGGTGTCTCTTCAATTCTAGGAGCCATTAATTTTATTACAACCTATTATTAATATAAAC  
CCCTGCGATGTCACAGTATCAAACCCCTTGTGGTATGATCTGTACTAATTACTGCCGTACTTCTCCTTCTCT

CACTTCCTGTATTAGCAGCTGGTATCACAATACTACTAACGGACCGAAACCTGAATACAACCTTTTTTGACCCA  
GCAGGAGGAGGAGACCCTATCCTATATCAACACCTATTCTGATTCTTTGGGCACCCTGAAGTATATATTCTTAT  
TTTACCTGGGTTTGGGATAATCTCCCATATTGTGACCTACTATTTCAGGAAAAAAGAACCATTTCGGATATATAGG  
AATAGTATGAGCCATAATATCAATTGGGTTCTAGGATTCATTGTATGAGCCCACCATATATTCACAGTCGGAAT  
AGACGTCGATACACGGGCTTACTTCACGTCAGCTACTATAATTATCGCCATCCCAACAGGAGTAAAAGTATTCA  
GTTGACTAGCAACGCTTCATGGGGGTAATAT

>CYTC2981-12|Ovis aries|COI-5P|HM236177

CACAAAGATATCGGCACCCTTTACCTTCTATTTGGTGCCTGAGCTGGTATAGTAGGAACCGCCTTAAGCCTAC  
TAATTCGCGCCGAACCTAGGCCAACCCGGAACCTCTACTCGGAGATGACCAAATCTACAACGTAATTGTAACCG  
CACATGCATTTGTAATAATTTTCTTTATAGTAATGCCTATTATAATCGGTGGATTCGGCAACTGACTAGTTCCTCT  
GATAATTGGAGCCCCTGATATAGCATTTCCTCGGATAAATAACATAAGCTTTTGACTTCTTCCCCCATCTTTCT  
GTTACTCCTAGCATCCTCTATGGTTGAGGCCGGAGCAGGAACAGGTTGAACCGTATACCCTCCTCTAGCAGG  
CAACCTAGCCCATGCAGGAGCCTCAGTAGATCTAACTATTTTCTCCCTACATCTGGCAGGTGTCTCTTCAATT  
CTAGGAGCCATTAATTTTATTACAACCTATTATTAATATAAAAACCCCTGCGATGTCACAGTATCAAACCCCTTGT  
TTGTATGATCTGTACTAATTAATGACCGTACTTCTCCTTCTCTCACTTCTGTATTAGCAGCTGGTATCACAATAC  
TACTAACGGACCGAAACCTGAATACAACCTTTTTTGACCCAGCAGGAGGAGGAGACCCTATCCTATATCAACA  
CCTATTCTGATTCTTTGGGCACCCTGAAGTATATATTCTTATTTTACCTGGGTTTGGGATAATCTCCCATATTGT  
GACCTACTATTTCAGGAAAAAAGAACCATTTCGGATATATAGGAATAGTATGAGCCATAATATCAATTGGGTTCT  
AGGATTCATTGTATGAGCCCACCATATATTCACAGTCGGAATAGACGTCGATACACGGGCTTACTTCACGTCA  
GCTACTATAATTATCGCCATCCCAACAGGAGTAAAAGTATTTCAGTTGACTAGCAACGCTTCATGGGGGT

>CYTC2982-12|Ovis aries|COI-5P|HM236178

CACAAAGATATCGGCACCCTTTACCTTCTATTTGGTGCCTGAGCTGGTATAGTAGGAACCGCCTTAAGCCTAC  
TAATTCGCGCCGAACCTAGGCCAACCCGGAACCTCTACTCGGAGATGACCAAATCTACAACGTAATTGTAACCG  
CACATGCATTTGTAATAATTTTCTTTATAGTAATGCCTATTATAATCGGTGGATTCGGCAACTGACTAGTTCCTCT  
GATAATTGGAGCCCCTGATATAGCATTTCCTCGGATAAATAACATAAGCTTTTGACTTCTTCCCCCATCTTTCT  
GTTACTCCTAGCATCCTCTATGGTTGAGGCCGGAGCAGGAACAGGTTGAACCGTATACCCTCCTCTAGCAGG  
CAACCTAGCCCATGCAGGAGCCTCAGTAGACCTAACTATTTTCTCCCTACACCTGGCAGGTGTCTCTTCAATT  
CTAGGAGCCATTAATTTTATTACAACCTATTATTAATATAAAAACCCCTGCGATGTCACAGTATCAAACCCCTTGT  
TTGTATGATCTGTACTAATCACTGCCGACTTCTCCTTCTCTCACTTCTGTATTAGCAGCTGGTATCACAATAC  
TACTAACGGACCGAAACCTGAACACAACCTTTTTTGACCCAGCAGGAGGAGGAGACCCTATCCTATATCAAC  
ACCTATTCTGATTCTTTGGGCACCCTGAAGTATATATTCTTATTTTACCTGGGTTTGGGATAATCTCCCATATTGT  
GACCTACTATTTCAGGAAAAAAGAACCATTTCGGATATATAGGAATAGTATGAGCCATAATATCAATTGGGTTCT  
AGGATTCATTGTATGAGCCCACCATATATTCACAGTCGGAATAGACGTCGATACACGGGCTTACTTCACGTCA  
GCTACTATAATTATTGCCATCCCAACAGGAGTAAAAGTATTTCAGTTGACTAGCAACGCTTCATGGGGGT

## Resumen de los parámetros importantes a considerar para el diseño de primers utilizando Primer3Plus:

1. **Longitud del Primer:** Idealmente entre 18 y 24 nucleótidos para equilibrar especificidad y eficiencia.
2. **Temperatura de Annealing (T<sub>m</sub>):** Debe estar entre 55°C y 65°C para una hibridación eficiente con el ADN molde.
3. **Contenido de GC (%GC):** Generalmente entre 40% y 60% para estabilidad y evitar estructuras secundarias.
4. **AT en los Extremos (AT Clamp):** Evitar secuencias repetitivas de AT al final del primer para mejorar la especificidad.
5. **Longitud del Producto Amplificado:** Define el rango deseado de tamaño del fragmento de ADN a amplificar, teniendo en cuenta que sea funcional para ADN de baja calidad.
6. **Uniformidad de Tamaño:** Los primers deben tener longitudes similares para condiciones de PCR consistentes.
7. **Especificidad del Primer:** Asegurar que el primer sea específico para la secuencia diana y no se empareje incorrectamente.
8. **Evitar Dímeros de Primers:** Verificar que no haya formación de dímeros entre los primers forward y reverse.