



# **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**CAMPUS MONTECILLO**

**POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD**

**GANADERÍA**

## **ASOCIACION DEL GENOMA COMPLETO PARA FECUNDIDAD MEDIANTE FIRMAS DE SELECCIÓN EN OVEJAS DE LA RAZA KATAHDIN**

**REYNA SÁNCHEZ RAMOS**

**T E S I S**  
**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL**  
**PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRA EN CIENCIAS**

**MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO, MÉXICO**

2022



# COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

La presente tesis titulada: **Asociación del genoma completo para fecundidad mediante firmas de selección en ovejas de la raza Katahdin**, realizada por la estudiante: **Reyna Sánchez Ramos**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS  
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD  
GANADERÍA

## CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO

CÉSAR CORTEZ ROMERO

ASESOR

JAIME GALLEGOS SANCHEZ

ASESOR

CARLOS MIGUEL BECERRIL PÉREZ

ASESOR

SAID CADENA VILLEGAS

Montecillo, Texcoco, Estado de México, diciembre de 2022.

# ASOCIACIÓN DEL GENOMA COMPLETO PARA FECUNDIDAD MEDIANTE FIRMAS DE SELECCIÓN EN OVEJAS DE LA RAZA KATAHDIN

Reyna Sánchez Ramos, M.C.  
Colegio de Postgraduados, 2022

## RESUMEN

Para lograr que los ovinos lleguen a producir mayor cantidad de crías con menor costo ambiental, se han aplicado biotecnologías reproductivas que mejoran los parámetros reproductivos de las ovejas. Estas biotecnologías van desde la sincronización de estros hasta el uso de información genómica. El análisis de esta última permite el hallazgo de genes candidatos asociados con la reproducción, con el uso de metodologías como firmas de selección. Los objetivos de este documento de tesis fueron: 1) mostrar evidencias de las bases y aplicaciones de la detección de genes candidatos asociados con reproducción en ovejas mediante firmas de selección y, 2) detectar genes candidatos usando firmas de selección en ovejas Katahdin. Para el primer objetivo, se realizó una búsqueda y un análisis de la información científica con base en datos de la Web of Science y Scopus, relacionada con genes candidatos asociados a reproducción en ovinos. Para el segundo objetivo, se usaron registros productivos y reproductivos de tres años, y genotipos (OvineSNP50K) de 48 ovejas Katahdin. Se identificaron dos grupos de ovejas: con alta fecundidad ( $1.3 \pm 0.03$ ) y baja fecundidad ( $1.1 \pm 0.06$ ). Este estudio muestra por primera vez evidencia de la influencia de los genes *CNOT11*, *GLUD1*, *GRID1*, *MAPK8* y *CCL28* en la fecundidad de ovejas de la raza Katahdin; además, se detectaron nuevos genes candidatos para fecundidad no reportados previamente en ovinos, pero sí para otras especies: *ANK2* (cerda), *ARHGAP22* (vaca y búfala), *GHITM* (vaca), *HERC6* (vaca), *DPF2* (vaca) y *TRNAC-GCA* (búfala, toro). Finalmente, se necesitan investigaciones futuras enfocadas a describir la base fisiológica de los cambios en el comportamiento reproductivo influido por estos genes.

**Palabras clave:** genes candidatos, fertilidad, SNP, ovinos, *ANK2*

# GENOME-WHOLE ASSOCIATION TO FECUNDITY THROUGH SELECTIVE SIGNATURES IN KATAHDIN SHEEP

Reyna Sánchez Ramos, M.C.  
Colegio de Postgraduados, 2022

## ABSTRACT

In order for sheep to produce more offspring at a lower environmental cost, reproductive biotechnologies have been applied that improve the reproductive parameters of sheep. These biotechnologies range from estrus synchronization to the use of genomic information. The analysis of the latter allows the discovery of candidate genes associated with reproduction, with the use of methodologies such as selective signatures. The objectives of this thesis document were: 1) to show evidence of the bases and applications of the detection of candidate genes associated with reproduction in sheep by means of selective signatures and, 2) to detect candidate genes using selective signatures in Katahdin sheep. For the first objective, a search and analysis of scientific information was carried out based on data from the Web of Science and Scopus, related to candidate genes associated with reproduction in sheep. For the second objective, productive and reproductive records of three years, and genotypes (OvineSNP50K) of 48 Katahdin sheep were used. Two groups of sheep were identified: with high fecundity ( $1.3 \pm 0.03$ ) and low fecundity ( $1.1 \pm 0.06$ ). This study shows for the first-time evidence of the influence of the *CNOT11*, *GLUD1*, *GRID1*, *MAPK8* and *CCL28* genes on the fertility of Katahdin sheep; In addition, new candidate genes for fertility not previously reported in sheep, but for other species were detected: *ANK2* (sow), *ARHGAP22* (cow and buffalo), *GHITM* (cow), *HERC6* (cow), *DPF2* (cow) and *TRNAC- GCA* (buffalo, bull). Finally, future research is needed to describe the physiological basis of changes in reproductive behaviour influenced by these genes.

**Key words:** candidate genes, fertility, SNP, ovine, *ANK2*

## **DEDICATORIA**

Esta tesis está dedicada a:

Mis padres Miguel Sánchez y Maura Ramos por darme la vida,

a mis hermanos Fernando, Alejandro y Karina por su compañía en esta vida y

a Zule por hacerme ver y sentir la vida de una forma diferente y especial,

los quiero y los amo.

## AGRADECIMIENTOS

Al **Colegio de Postgraduados Campus Montecillo**, por darme la oportunidad de ser parte de esta institución que me brindó conocimientos para cumplir mi meta en formación académica.

Al **Posgrado de Recursos Genéticos y Productividad – Ganadería**, por su apoyo económico para esta investigación.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACYT**), por el financiamiento brindado durante mis estudios de maestría para concluir la presente investigación de esta tesis.

A la **Granja ovina San Francisco**, por su flexibilidad y confianza para trabajar con sus ovejas y datos para llevar a término esta investigación.

Al **Dr. César Cortez Romero**, por sus conocimientos, apoyo, supervisión y consejos para la realización y presentación de esta tesis de maestría.

Al **Dr. Jaime Gallegos Sánchez**, por sus conocimientos en clases, apoyo y contribución para esta tesis de maestría.

Al **Dr. Carlos Miguel Becerril Pérez**, por su apoyo y contribución a esta tesis de maestría.

Al **Dr. Said Cadena Villegas**, por su apoyo y contribución a esta tesis de maestría.

Al **M.V.Z. Dante J. Hernández Rubio**, por su amistad y apoyo durante esta investigación.

A la **M.C. Mitzilin Zuleica Trujano Chavez**, por sus conocimientos, apoyo, consejos e indispensable contribución en los análisis estadísticos de esta investigación.

## CONTENIDO

RESUMEN .....	iii
ABSTRACT .....	iv
DEDICATORIA.....	v
AGRADECIMIENTOS .....	vi
LISTA DE CUADROS .....	ix
LISTA DE FIGURAS .....	x
ABREVIATURAS.....	xi
INTRODUCCIÓN GENERAL .....	1
OBJETIVO E HIPÓTESIS .....	4
Objetivo.....	4
Hipótesis .....	4
LAS FIRMAS DE SELECCIÓN EN EL GENOMA Y LA IDENTIFICACIÓN DE GENES CANDIDATOS ASOCIADOS CON REPRODUCCIÓN EN OVEJAS: UNA REVISIÓN .....	5
IMPORTANCIA DE LOS OVINOS Y SU REPRODUCCIÓN .....	6
METODOLOGÍAS PARA IDENTIFICAR GENES CANDIDATOS.....	7
GWAS clásico.....	8
GWAS con firmas de selección .....	9
Las firmas de selección en la identificación de genes candidatos .....	10
MÉTODOS DE DETECCIÓN DE FIRMAS DE SELECCIÓN.....	11
GENES CANDIDATOS ASOCIADOS CON CARACTERÍSTICAS REPRODUCTIVAS EN OVEJAS .....	12
CAPITULO I. DETECCIÓN DE GENES CANDIDATOS ASOCIADOS CON FECUNDIDAD MEDIANTE FIRMAS DE SELECCIÓN EN OVEJAS DE LA RAZA KATAHDIN .....	14
1.1 RESUMEN .....	14
1.2 ABSTRACT .....	15
1.3 INTRODUCCIÓN .....	16
1.4 MATERIALES Y MÉTODOS .....	18
1.4.1 Declaraciones éticas .....	18

1.4.2	Fenotipos .....	18
1.4.3	Genotipos .....	19
1.4.4	Estructura de la población .....	19
1.4.5	Firmas de selección .....	20
1.4.6	Detección de genes candidatos .....	20
1.5	RESULTADOS.....	21
1.5.1	Estructura de la población .....	21
1.5.2	Genes candidatos .....	22
1.6	DISCUSIÓN .....	23
1.6.1	Estructura de la población .....	23
1.6.2	Genes candidatos .....	23
1.7	CONCLUSIONES .....	28
1.8	AGRADECIMIENTOS .....	29
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES GENERALES .....		30
Conclusiones .....		30
Recomendaciones .....		30
LITERATURA CITADA.....		31



## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Genes candidatos seleccionados por dos métodos estadísticos de detección de firmas de selección que afectan la fecundidad en ovejas Katahdin y características reproductivas informados en otros estudios.....	25
---	----

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Diagrama de flujo del proceso para la detección de genes candidatos mediante GWAS, modificado de Alqudah *et al.* (2020)..... 8
- Figura 2.** Barrido selectivo clásico. A través de las generaciones la mutación que produce ventaja de los individuos se fija en la población. Modificado de Saravanan *et al.* (2020)..... 11

### CAPITULO I

- Figura 1.** Representación gráfica del análisis de componentes principales (PCA; izquierda) y dendograma construido a partir de distancias euclidianas (derecha). Ambas representaciones muestran las subpoblaciones de ovejas Katahdin de acuerdo con su nivel de fecundidad (alto o bajo). Para el PCA, se muestran los eigenvalues (EV) de 32 dimensiones cuya suma de varianza es igual que 80.6%; además de la varianza explicada por la primera (PC1) y la segunda dimensión (PC2) ..... 21
- Figura 2.** Distribución genómica de firmas de selección positiva para alta fecundidad usando la frecuencia de polimorfismos de nucleótido simple (SNP) en los diferentes haplotipos hallados por ROH en ovejas Katahdin..... 22

## ABREVIATURAS

<b>ADN</b>	Ácido desoxirribonucleico Deoxyribonucleic Acid
<b>CLR</b>	Razón de verosimilitud compuesta Composite Likelihood Ratio
<b>F<sub>ST</sub></b>	Índice de fijación Fixation index
<b>GWAS</b>	Estudio de asociación del genoma completo Genome-wide Association study
<b>HP</b>	Heterocigosidad combinada Pooled heterozygosity
<b>iHS</b>	Puntuación integrada de haplotipo Integrated haplotype score
<b>LD</b>	Desequilibrio de ligamiento Linkage Disequilibrium
<b>LDD</b>	Descomposición del desequilibrio de ligamiento Linkage Disequilibrium Decay
<b>MAS</b>	Selección Asistida por marcadores Marker Assisted Selection
<b>PCA</b>	Análisis de Componentes Principales Principal Component Analysis
<b>QTL</b>	Loci de características cuantitativas Quantitative Trait Loci
<b>rEHH</b>	Haplotipo de homocigosidad extendida relativa Relative Extended Haplotype Homozygosity
<b>ROH</b>	Corridas de Homocigosidad Runs of Homozygosity
<b>SFS</b>	Espectro de frecuencia del sitio Site Frequency Spectrum
<b>SNP</b>	Polimorfismo de nucleótido simple Single Nucleotide Polymorphism
<b>XP-EHH</b>	Homocigosidad de haplotipo extendida entre poblaciones Cross-Population Extended Haplotype Homozygosity

## INTRODUCCIÓN GENERAL

La ovinocultura en México se desarrolla en distintos sistemas que se distinguen por las necesidades de cada región. En la actualidad existe un incremento de ovejas de pelo en zonas del centro, sur este y sur del país (Hernández-Marín, 2017), así como en países en desarrollo; esto debido a la alta adaptabilidad al clima, la prolificidad y buena conversión alimenticia mostrada (Lucio *et al.*, 2018). Con fines de mejorar la rentabilidad de la producción ovina en México, se introdujo la raza Katahdin. Esta raza presenta características similares a la raza Pelibuey: buena capacidad reproductiva y habilidad materna (Chay-Canul *et al.*, 2019).

De acuerdo con Davis y White (2020), la reproducción es una de las principales alternativas para mejorar la sostenibilidad de los sistemas de producción de pequeños rumiantes, frente a la creciente necesidad de satisfacer la demanda de carne y leche, donde la mejora genética para características reproductivas ha sido clave en el éxito de los sistemas (Simões *et al.*, 2021). En particular, la producción de ovejas se caracteriza por una alta producción de leche, prolificidad y tasa de crecimiento (Simões *et al.*, 2021).

Gootwine (2020) mencionó que, implementar programas de mejoramiento genético para prolificidad es lo mejor para aumentar la eficiencia en producción de corderos en sistemas semi-intensivos e intensivos. Mejorar la eficiencia reproductiva mediante la prolificidad conduce a un sistema sostenible de producción, dado que se reduce el número de ovejas necesarias para producir una cantidad objetivo de carne (Davis y White, 2020).

La selección genética para características reproductivas ha sido un reto, dado que la mayoría de las características poseen baja heredabilidad, lo que se traduce en una escasa ganancia genética anual (Ghiasi y Abdollahi-Arpanahi, 2021). Por tanto, de acuerdo con Simões *et al.* (2021), existen dos enfoques principales para mejorar estas características mediante la Selección Asistida por Marcadores (MAS): 1) aumentar de la tasa de ovulación y tamaño de camada o prolificidad (principal factor de rentabilidad), mediante la identificación de genes candidatos como el Booroola o el de la proteína

morfogenética ósea (*BMP*), *R1B*, *BMP15* y *GDF9* y; 2) reducir la estacionalidad de las ovejas mediante el gen de la melatonina *MTNR1A*.

A pesar de existir información acerca de las mutaciones asociadas con mejor prolificidad de los genes antes mencionados, se han encontrado otros genes con efecto importante. Al respecto, Esmaeili-Fard *et al.* (2021) encontraron que el gen *NTRK2* afecta el tamaño de la camada en ovejas Baluchi; por otro lado, Ghiasi y Abdollahi-Arpanahi (2021) reportaron a los genes *FLT1* y *CCL2* como candidatos para prolificidad. Smolucha *et al.* (2021) afirmaron que, el avance en las tecnologías moleculares permite identificar polimorfismos y genes candidatos para mejorar características complejas, como las asociadas con la reproducción. Mediante estudios de asociación del genoma completo (GWAS, por sus siglas en inglés Genome-Wide association study) esto ha sido sencillo, aunque costoso. Para algunas razas se han reportado genes de familias distintas que afectan la prolificidad; por ejemplo, para la raza Cara Negra, se encontraron los genes *ODZ1*, *ODZ3*, *LTBP3* y *DSCAM* (Cockrum *et al.*, 2012). Otro ejemplo son los genes hallados para las razas: Wadi (*BMPR1B*, *FBN1* y *MMP2*), Finnisheep (*INHBB*, *NF1*, *FLT1*, *PTGS2* y *PLCB3*), Romanov (*ESR2*) y Texel (*ESR1*, *GHR*, *ETS1*, *MMP15*, *FLI1*, y *SPP1*) reportados por Xu *et al.* (2018).

Por lo anterior, es necesario explorar más mecanismos genéticos para la prolificidad en ovejas usando GWAS para identificar genes candidatos asociados con esta característica reproductiva. De acuerdo con McRae *et al.* (2014), el chip que se usó en este estudio proporciona una forma rápida de detectar regiones bajo selección. Con este fin, las ovejas que han sido seleccionadas por su tamaño de camada junto con mapas genéticos de alta densidad, son un recurso clave que permitirá una futura selección rápida y precisa de animales asistida por marcadores.

Saravanan *et al.* (2020) mencionaron que, las estrategias de selección genética en el ganado han dejado huella en los genomas de los animales; estas huellas son conocidas como firmas de selección. Estas firmas de selección brindan información sobre los procesos de domesticación y evolución que dieron como resultado las razas de animales que se conocen hasta el momento, que se adaptaron a diferentes condiciones ambientales (Saravanan *et al.*, 2020). Una de las aplicaciones más importantes de las

firmas de selección es la identificación de genes candidatos bajo selección, asociados con características de importancia económica (McRae *et al.*, 2014), una nueva metodología de GWAS. Saravanan *et al.* (2020) clasifican las firmas de selección en dos tipos: 1) estadísticas intra-población y 2) estadísticas inter-población. De acuerdo con los anteriores autores dentro del primer grupo se encuentran las basadas en el espectro de frecuencia del sitio (SFS; por sus siglas en inglés), en desequilibrio de ligamiento (LD; por sus siglas en inglés) y en la variabilidad local reducida; por otro lado, para el segundo grupo se encuentran las estadísticas basadas en la diferenciación de un solo sitio y de un haplotipo.

La primera parte de esta tesis fue una revisión de literatura que ayuda a entender el origen y aplicaciones de las firmas de selección; mientras que, el capítulo I es una aplicación de firmas de selección basadas en variabilidad de marcadores. En este último capítulo se usaron las firmas de selección: índice de fijación (del inglés Fixation index  $F_{ST}$ ,  $F_{ST}$ ) y corrida de homocigosidad (del inglés Runs Of Homozygosity, ROH).  $F_{ST}$  se basa en la medida de las diferencias en las frecuencias de los alelos entre poblaciones (es decir, loci que se fijan diferencialmente en diferentes subpoblaciones). El valor de  $F_{ST}$  varía de 0 (sin diferenciación) a 1 (la diferencia fija entre poblaciones). Los valores altos indican selección positiva. Por otro lado, ROH se refiere a segmentos consecutivos de genotipos homocigotos en el genoma; es decir, ROH es una medida de la fijación de haplotipos en los genomas (Saravanan *et al.*, 2020).

## **OBJETIVO E HIPÓTESIS**

### **Objetivo**

Detectar genes candidatos usando las firmas de selección índice de fijación ( $F_{ST}$ ) y corrida de homocigosidad (ROH) en ovejas de la raza Katahdin, usando la información genómica del genotipado mediante el chip Illumina ovine SNP 50K.

### **Hipótesis**

La población de ovejas Katahdin en estudio muestra evidencia de genes candidatos asociados con variables reproductivas detectados mediante firmas de selección.

## **LAS FIRMAS DE SELECCIÓN EN EL GENOMA Y LA IDENTIFICACIÓN DE GENES CANDIDATOS ASOCIADOS CON REPRODUCCIÓN EN OVEJAS: UNA REVISIÓN**

La domesticación de animales ha sido clave en la evolución del ser humano. Los productos que se obtienen de los animales permitieron el desarrollo cognitivo, social y económico de las antiguas poblaciones (Naval-Sánchez *et al.*, 2018; Saravanan *et al.*, 2020). De acuerdo con Mignon-Grasteau *et al.* (2005), la domesticación de los animales fue y es un proceso complejo compuesto por cambios evolutivos controlables e incontrolables: deriva genética, selección natural (incontrolables) y selección artificial (controlable). Los procesos evolutivos han dado como resultado diversas razas de animales domésticos. En particular los ovinos han sido una de las especies rústicas preferidas de los ganaderos, son pequeñas, consumen forraje de calidad media o baja con la capacidad de transformarlo en carne y leche de calidad (Naval-Sánchez *et al.*, 2018). Las actuales herramientas genómicas han ayudado a esclarecer la base molecular de los procesos evolutivos, con el potencial de ayudar en el proceso del mejoramiento genético de los ovinos, encontrando las relaciones genotipo-fenotipo de las características económicamente importantes (Naval-Sánchez *et al.*, 2018; Saravanan *et al.*, 2020).

La evidencia de los procesos evolutivos en las especies y ovinos puede medirse a través de las firmas de selección. De acuerdo con Saravanan *et al.* (2020), en los genomas existen porciones de ADN, fijadas a través de las generaciones, que obedecen un patrón de homocigosidad que rodea a una mutación ventajosa para los individuos. Las firmas de selección son estas huellas en el genoma que pueden ser identificadas en todos los individuos de la población como haplotipos comunes. Las firmas de selección han ayudado a localizar segmentos genómicos que han sufrido mutaciones ventajosas y que están relacionados con la adaptación al entorno de los individuos (Saravanan *et al.*, 2020). En específico, relacionados con características de importancia económica, como la reproducción. Estos segmentos se conocen como segmentos candidatos y siendo segmentos intragénicos el concepto se puede trasladar a genes candidatos; de acuerdo



con la posición y cromosoma de los segmentos se puede conocer el nombre de los genes.

Las firmas de selección son útiles para el hallazgo de genes candidatos en las poblaciones, dado que identifican los segmentos de ADN mutados que muestran una ventaja sobre otros individuos con el genotipo no mutado. De aquí la importancia de su aplicación en nuevas metodologías de estudios de asociación del genoma completo (Saravanan *et al.*, 2020; Naval-Sánchez *et al.*, 2018). La presente revisión pretende mostrar evidencias de las bases y aplicaciones de la detección de genes candidatos asociados a reproducción en ovejas mediante firmas de selección.

### **IMPORTANCIA DE LOS OVINOS Y SU REPRODUCCIÓN**

La producción de carne y leche de rumiantes ha sido señalada como una de las principales fuentes del efecto invernadero, por lo tanto mejorar los parámetros productivos y reproductivos de los animales se ha convertido en el objetivo principal para reducir el impacto ambiental de la producción de rumiantes (Villareal-Ornelas *et al.*, 2022). En particular, la producción de pequeños rumiantes ha sido una de las alternativas preferidas para producir más carne y leche con menos animales, dada la reducción de la huella de carbono a través de los años (Villareal-Ornelas *et al.*, 2022). De acuerdo con la FAO (2022) para 2019, la población total de ovejas ascendió a 1238 millones y produjo un valor de 89,000 millones de dólares; los países más importantes en la producción ovina fueron China (13%) e India (6%). Por otro lado, en Latinoamérica los países más importantes fueron Brasil, Argentina, Perú y México. México es uno de los países con mayor valor a la producción ovina, en 2019 generó el 22% del valor total de la producción de Latinoamérica (2288 millones de dólares) con tan sólo el 11% del inventario para la misma región (FAO, 2022).

Una de las razones por las que la producción ovina ha sido exitosa en los últimos años fue la implementación de biotecnologías reproductivas que ayudaron a mejorar la prolificidad de los rebaños y aumentaron el valor económico de la especie (Villareal-Ornelas *et al.*, 2022). Algunas de estas biotecnologías son: inseminación artificial, sincronización de estros con el uso de hormonas exógenas, procedimientos *in vitro* de

fertilización del ovocito y transferencia embrionaria (Habeeb y Kutzler, 2021). De acuerdo con Notter (2008), el mantenimiento de altos niveles de fertilidad y niveles fecundidad son críticos para una producción ovina eficiente.

Algunas otras estrategias que han permitido generar cambios permanentes en la reproducción ovina es el mejoramiento genético y la implementación de tecnologías genómicas. La primera estrategia para mejoramiento genético que se implementó en los ovinos fue el sistema de cruzamientos, el clásico vigor híbrido y complementariedad permitieron la obtención de más animales de buena talla y masa muscular. Por ejemplo, en México, la raza más abundante es la Pelibuey, esta raza carece de buena masa muscular; sin embargo, se utiliza como raza materna en sistemas de cruzamiento con otras razas como Dorper. Pelibuey, goza de buena habilidad materna y prolificidad, que la hace ideal para este tipo de cruzamientos (Aké-López *et al.*, 2019).

Actualmente existe abundante información de los genes que afectan características reproductivas y que permiten mejorar la prolificidad en los rebaños. Lo que ha conducido a un mejoramiento genético más preciso, enfocado a algunos cuantos genes de efecto mayor. No obstante, aún son necesarias investigaciones que permitan conocer las características y expresiones de estos genes en las diversas razas ovinas en Latinoamérica (Gebreselassie *et al.*, 2020; Notter, 2008).

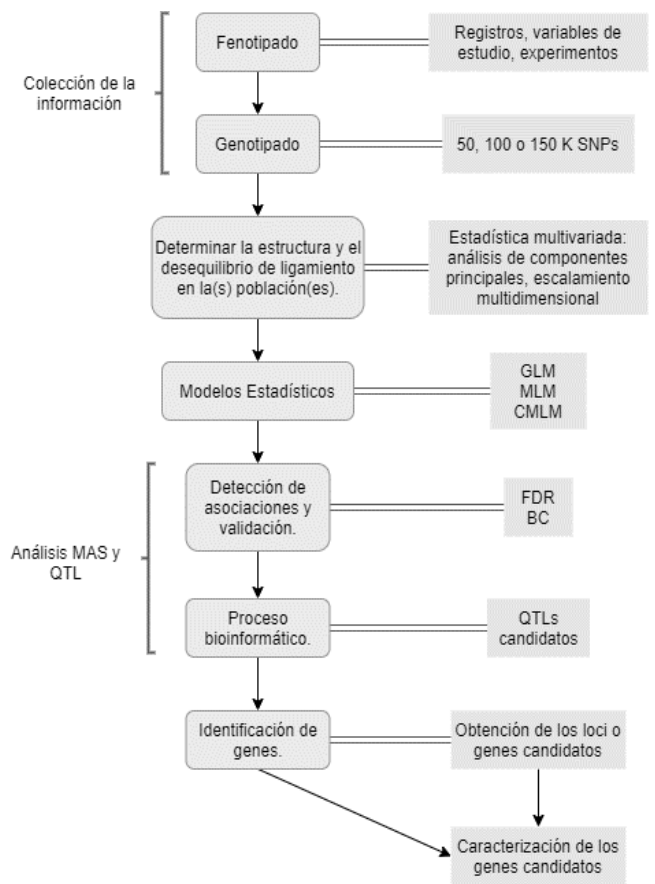
## **METODOLOGÍAS PARA IDENTIFICAR GENES CANDIDATOS**

Desde el surgimiento de GWAS (estudio de asociación del genoma completo por sus siglas en inglés) la información que se conoce de los genes que afectan características de importancia económica en ovinos ha incrementado; brindando esperanza para el mejoramiento de características de importancia económica de baja heredabilidad, en particular para las características reproductivas como prolificidad, fertilidad y fecundidad (Notter, 2008). Las metodologías para hallar genes candidatos ya no solo se reducen al GWAS clásico o marcador por marcador, ahora existe una gama de metodologías que se ajustan a las necesidades de los investigadores. Por ejemplo, el uso de Machine-learning ha cambiado la perspectiva de los polimorfismos en los genomas y ha ayudado

a encontrar genes candidatos, por ejemplo, con el método de componentes principales (Zepeda-Batista *et al.*, 2021).

### GWAS clásico

La metodología básica para llevar a cabo un estudio de asociación del genoma completo es constante, siempre están presentes las fases de colección de datos, los estudios exploratorios o de estructura genética para visualizar la distribución de los animales de acuerdo con sus genotipos, la aplicación de modelos estadísticos para obtener los segmentos de ADN más significativos, con estos modelos (modelos lineales generales, modelos lineales mixtos, entre otros) se detectan las asociaciones entre los genotipos y sus variaciones fenotípicas correspondientes. Para, después, en la parte bioinformática encontrar los QTLs candidatos y a su vez los genes candidatos. Por último, para entender los procesos fisiológicos en los que tienen efecto, se caracteriza el gen y se buscan sus vías de acción (Alqudah *et al.* 2020). Toda la descripción anterior sobre la metodología básica de GWAS se encuentra resumida en la Figura 1.



**Figura 1.** Diagrama de flujo del proceso para la detección de genes candidatos mediante GWAS, modificado de Alqudah *et al.* (2020).

variaciones fenotípicas, bajo el supuesto de la existencia del desequilibrio de ligamiento. El desequilibrio de ligamiento permite suponer que los marcadores estudiados se segregan junto con segmentos de ADN de importancia, por lo que el estudio de un marcador implica estar considerando indirectamente a un segmento que tienen un impacto sobre el fenotipo (Hayes. 2013; Korte 2013).

El modelo estadístico propuesto por Hayes (2013) es el siguiente:

$$y = Wb + Xg + e$$

donde  $y$  es el vector de fenotipos,  $W$  es la matriz que relaciona los efectos fijos fenotípicos,  $b$  es un vector de efectos fijos como la media, efectos de estructura poblacional y edad,  $X$  es la matriz de diseño que conecta los efectos de marcador,  $g$  es el efecto del marcador y  $e$  es el vector de desviaciones aleatorias con el supuesto  $e_{ij} = N(0, \sigma_e^2)$ .

La principal limitante de este enfoque es que se analiza un SNP (nucleótido de polimorfismo simple) por vez, lo que limita el estudio de interacciones interlocus, los efectos epistáticos disfrazados de aditividad no pueden ser medidos. El modelo estadístico anterior, es el más sencillo, actualmente se manejan millones de datos con covariables, efecto genotipo por ambiente o inclusive efecto geno por ambiente que hacen que el proceso computacional de GWAS sea limitante (Mortezaei y Tavallaee, 2021).

### **GWAS con firmas de selección**

Nuevos enfoques moleculares han ayudado a superar las principales limitantes de GWAS clásico. Estos enfoques están basados en las firmas de selección, donde lejos de un modelo, se usan valores estadísticos puntuales para decidir si un marcador es o no candidato. Saravanan *et al.* (2020) mencionan que las estrategias de selección genética en el ganado han dejado huella en los genomas de los animales, estas huellas son conocidas como firmas de selección.

Estas firmas de selección brindan información acerca de los procesos de domesticación y evolución que dieron como resultado las razas de animales que se conocen hasta el

momento (Saravanan *et al.*, 2020). Las firmas de selección trabajan como marcadores de los segmentos de ADN que mayor cambio han sufrido tras adaptarse a los entornos.

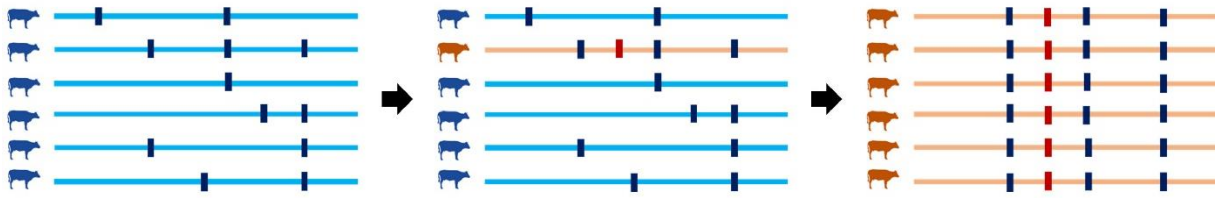
La forma de trabajar de las firmas de selección como GWAS consiste en caracterizar las diferencias genéticas de poblaciones fenotípicamente divergentes. Por ejemplo, Dutta *et al.* (2020) caracterizaron mediante haplotipos, siete poblaciones de búfalos de agua y una bovina, para después obtener genes candidatos. Los autores, tomaron a los búfalos como ejemplos de rusticidad y los bovinos con menor rusticidad, las diferencias en los valores de las firmas de selección ayudaron a localizar los segmentos de ADN responsables de la adaptación de los búfalos.

### **Las firmas de selección en la identificación de genes candidatos**

#### Origen de las firmas de selección

Las firmas de selección son huellas en el genoma producidas por la adaptabilidad y evolución de las especies, que se producen a través de fenómenos mutacionales. La selección a través de las generaciones crea desviaciones en el arreglo genómico de los individuos, sin selección, la teoría neutral en los patrones de variación molecular opera. La teoría neutral de la evolución molecular sugiere que la mayoría de las variaciones genéticas se deben a sustituciones neutrales mantenidas por la deriva genética y no por la evolución adaptativa o selección natural (Saravanan *et al.*, 2020).

Cada forma de selección provoca cambios específicos en los loci seleccionados y en los loci neutrales vinculados a ellos. Los loci neutrales son aquellos loci sin función conocida en el organismo y por lo general se encuentran alrededor de un loci que genera un producto funcional en el organismo (proteínas, enzimas, etc.). Cuando la selección positiva opera en un alelo recién surgido (mutación) que tiene una ventaja selectiva, tiende a aumentar en frecuencia en la población y lleva consigo alelos neutrales vinculados (Figura 2). Este fenómeno se conoce como efecto de autostop o barrido selectivo. Este barrido selectivo reduce la heterocigosidad de las regiones que rodean el loci seleccionado o con ventaja, fijando el segmento de ADN en la mayoría de los individuos de la población (Gouveia *et al.*, 2014). Este segmento de ADN fijado tiende a fijarse más en las generaciones si el haplotipo es largo (Saravanan *et al.*, 2020).



**Figura 2.** Barrido selectivo clásico. A través de las generaciones la mutación que produce ventaja de los individuos se fija en la población. Modificado de Saravanan *et al.* (2020).

## MÉTODOS DE DETECCIÓN DE FIRMAS DE SELECCIÓN

La identificación de firmas de selección en los genomas de los animales es ahora de interés dado que es una alternativa a la detección de genes candidatos, gracias a la gran cantidad e incomparable distribución de los marcadores SNP en el genoma de los organismos. Aunque anteriormente su uso se limitaba al entendimiento de los procesos evolutivos a nivel genético (Mariadassou *et al.*, 2020; Saravanan *et al.*, 2020).

De acuerdo con Saravanan *et al.* (2020), los barridos selectivos varían en tamaño, fuerza, origen y frecuencia de mutación; por lo que su identificación depende del método de búsqueda empleado. Mediante los distintos métodos es posible no encontrar los mismos genes candidatos. Los autores anteriores clasifican los métodos de detección de firmas de selección en dos grandes grupos:

### 1. Estadísticas intra-población

- *Espectro de frecuencia del sitio*: incluye las estadísticas D de Tajima, la razón de verosimilitud compuesta (CLR; por sus siglas en inglés) y el estadístico H de Fay y Wu.
- *Desequilibrio de ligamiento*: donde se encuentran el SFS (rEHH), la puntuación integrada de haplotipo (iHS) y la prueba de descomposición del desequilibrio de ligamiento (LDD; por sus siglas en inglés).
- *Variabilidad local reducida*: rachas de homocigosidad (ROH; por sus siglas en inglés) y heterocigosidad combinada (HP; por sus siglas en inglés).

### 2. Estadísticas inter-población

- *Diferenciación de un solo sitio*: el índice de fijación integrada o  $F_{ST}$  y FLK.
- *Diferenciación basada en haplotipos*: la homocigosidad de haplotipos extendidos entre poblaciones (XP-EHH) y hapFLK.

## **GENES CANDIDATOS ASOCIADOS CON CARACTERÍSTICAS REPRODUCTIVAS EN OVEJAS**

De acuerdo con Simões *et al.* (2021), existen dos enfoques principales para mejorar las características reproductivas de las ovejas mediante la selección asistida por marcadores (MAS): 1) aumentar de la tasa de ovulación y tamaño de camada o prolificidad (principal factor de rentabilidad), mediante la identificación de genes candidatos como el Booroola o el de la proteína morfogenética ósea 15 (*BMP 15*), el receptor de proteína morfogenética IB (*BMPRI*B), y *GDF9* o; 2) reducir la estacionalidad de las ovejas mediante el gen de la melatonina *MTNR1A*.

Gebreselassie *et al.* (2020) indican que el receptor de proteína morfogenética IB (*BMPRI*B) influye en la ovulación y el tamaño de la camada; mientras que, la proteína morfogenética ósea 15 (*BMP15*) y el factor de diferenciación de crecimiento 9 (*GDF9*) que pertenece a la familia *TGF-β*, participan en la formación de folículos. De manera independiente, *BMP15* tiene efecto en las células de la granulosa, células de la teca y el ovocito; por otro lado, el *GDF9* funciona como regulador del desarrollo de folículos ováricos. Muñoz-García *et al.* (2020) puntualizaron que la mayoría de las ovejas homocigotas que presentan mutaciones en regiones codificantes de estos genes, tienen tasa ovulatoria y prolificidad alta; mientras que, las ovejas homocigotas son infértiles (algunas razas ovinas presentan lo contrario). Esmaeili-Fard *et al.* (2021), encontraron que el gen *NTRK2* afecta el tamaño de la camada en ovejas Baluchi; por otro lado, Ghiasi y Abdollahi-Arpanahi (2021) reportaron a los genes *FLT1* y *CCL2* como candidatos para prolificidad.

Además de las características de fecundidad, también hay otras características importantes, como las de rendimiento reproductivo. Un estudio con microsatélites en el gen del receptor de prolactina (*PRLR*) reveló su asociación con rendimiento reproductivo en las razas de ovejas Herdwick, Rough Fells y Dalesbred. *PRLR* es uno de los miembros

de la familia de genes de receptores de citoquinas de clase 1 (Bowles *et al.*, 2014). Además, se han informado variantes moleculares en los genes *CCNB2* y *SLC8A3* asociadas con el desarrollo de ovocitos en razas de ovejas chinas de cola gorda, Merina alemana y Dorper (Wang *et al.*, 2015).



# CAPITULO I. DETECCIÓN DE GENES CANDIDATOS ASOCIADOS CON FECUNDIDAD MEDIANTE FIRMAS DE SELECCIÓN EN OVEJAS DE LA RAZA KATAHDIN

## 1.1 RESUMEN

Una de las estrategias para mejorar genéticamente características reproductivas, pese a su baja heredabilidad, ha sido la identificación de genes candidatos. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue detectar genes candidatos mediante las firmas de selección índice de fijación (del inglés Fixation index  $F_{ST}$ ,  $F_{ST}$ ) y corrida de homocigosidad (del inglés Runs of Homozygosity, ROH) en ovejas de la raza Katahdin. Se usaron registros productivos y reproductivos de tres años, y genotipos (OvineSNP50K) de 48 ovejas Katahdin. Para realizar la comparación genética, se identificaron dos grupos de ovejas: con alta fecundidad ( $1.3 \pm 0.03$ ) y baja fecundidad ( $1.1 \pm 0.06$ ). Este estudio muestra por primera vez evidencia de la influencia de los genes *CNOT11*, *GLUD1*, *GRID1*, *MAPK8* y *CCL28* en la fecundidad de ovejas de la raza Katahdin; además, se detectaron nuevos genes candidatos para fecundidad no reportados previamente en ovinos, pero sí para otras especies: *ANK2* (cerda), *ARHGAP22* (vaca y búfala), *GHITM* (vaca), *HERC6* (vaca), *DPF2* (vaca) y *TRNAC-GCA* (búfala, toro). Estos nuevos genes candidatos en ovinos parecen tener una expresión alta en la reproducción. Por tanto, se necesitan investigaciones futuras enfocadas a describir la base fisiológica de los cambios en el comportamiento reproductivo influido por estos genes.

**Palabras clave:**  $F_{ST}$ , ROH, candidate genes, fertility, ovine

## 1.2 ABSTRACT

One of the strategies to genetically improve reproductive characteristics, despite their low inheritability, has been the identification of candidate genes. Therefore, the objective of this study was to detect candidate genes through the selective signatures fixation index ( $F_{ST}$ ) and runs of homozygosity (ROH) in Katahdin ewes. Productive and reproductive records from three years were used, and genotypes (OvineSNP50K) of 48 Katahdin ewes. Two groups of ewes were identified to carry out the genetic comparison: with high fecundity ( $1.3 \pm 0.03$ ) and with low fecundity ( $1.1 \pm 0.06$ ). This study shows for the first time evidence of the influence of the *CNOT11*, *GLUD1*, *GRID1*, *MAPK8* and *CCL28* genes in the fecundity of Katahdin ewes; in addition, new candidate genes were detected for fecundity which were not reported previously in ewes, but which were detected for other species: *ANK2* (sow), *ARHGAP22* (cow and buffalo cow), *GHITM* (cow), *HERC6* (cow), *DPF2* (cow) and *TRNAC-GCA* (buffalo cow, bull). These new candidate genes in ewes seem to have a high expression in reproduction. Therefore, future studies are needed focused on describing the physiological basis of changes in the reproductive behaviour influenced by these genes.

**Keywords:**  $F_{ST}$ , ROH, candidate genes, fertility, ovine

### 1.3 INTRODUCCIÓN

En México, los ovinos (*Ovis aries*) son abundantes en zonas áridas y templadas, donde su carne es una fuente de alimento importante para familias de escasos recursos y consumidores de platillos tradicionales y festivos. Sin embargo, se necesita más información de la especie para la mejora de características de interés económico reproductivas, como la fertilidad (Vázquez-Martínez *et al.*, 2018).

La fertilidad, fecundidad y prolificidad son las tres características reproductivas clave para lograr una producción ovina sostenible (Gootwine, 2020; Ivanova *et al.*, 2021). La fecundidad es la habilidad de los animales para producir descendencia, es importante en los sistemas de producción, dado que impacta directamente otras características como la prolificidad, número y kilogramos de corderos destetados y el total de kilogramos de carne producidos (Davis y Blanco., 2020; Gootwine, 2020; Ivanova *et al.*, 2021). Aunque en México los ovinos de la raza Katahdin no son tan abundantes como los de la raza Pelibuey; los primeros se destacan por su tolerancia al calor, alta velocidad de crecimiento y ganancia de peso (Chay–Canul *et al.*, 2019; UNO, 2022). Además, es una raza rústica, con una alta tolerancia parasitaria en comparación con ovejas de lana (UNO, 2022) y tienen prolificidad de 1.3 (González-Godínez *et al.*, 2014), con partos dobles y triples (Chay–Canul *et al.*, 2019).

Las características reproductivas en ovinos son de baja heredabilidad, por lo tanto, la selección por fenotipo resulta en escasa ganancia genética anual (Ghiasi y Abdollahi-Arpanahi, 2021). La identificación de genes candidatos es una de las estrategias para mejorar estas características, a estos genes se les conoce como genes de la fecundidad o Fec genes (Wang *et al.*, 2022). Se han identificado tres genes mayores que afectan fecundidad en ovejas: el gen *BMPR1B* o *FecB*, el gen *BMP15* o *FecX* y el gen *GDF9* o *FecG* (Gebreselassie *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2019). El gen *GDF9* se expresa en el tejido lúteo y en todas las etapas de desarrollo del folículo ovárico e influye directamente en la prolificidad de las ovejas; además, se ha demostrado que una ausencia total de su expresión conduce a la infertilidad de las ovejas (Silva *et al.*, 2004).

Adicional a los genes mayores se han detectado otros genes asociados a la fecundidad en distintas razas de ovinos como: *PDGERL*, *FSHR*, *LEPR*, *KLF5* y *PDGFRL* (Nosrati *et al.*, 2018). Algunos otros genes asociados con prolificidad son: *FLT1*, *CCL2* (Ghiasi y Abdollahi-Arpanahi, 2021), *ODZ1*, *ODZ3*, *LTBP3*, *DSCAM* (Cockrum *et al.*, 2012), *ESR1*, *GHR*, *ETS1*, *MMP15*, *FLI1*, y *SPP1* (Xu *et al.*, 2018).

Por lo anterior, es necesario explorar más mecanismos genéticos para fecundidad en ovejas mediante la identificación de genes candidatos. Dada la diferencia genética entre razas, es pertinente la aplicación del estudio de asociación del genoma completo (GWAS) para encontrar genes asociados con fecundidad (Li *et al.*, 2020). Existen diferentes metodologías de GWAS para encontrar marcadores candidatos: el GWAS clásico o marcador por marcador (Hayes, 2009), el uso de aprendizaje automático (Díez *et al.*, 2021; Mortezaei y Tavallaei, 2021), el análisis de asociación retrospectivo (Mortezaei y Tavallaei, 2021) y la metodología molecular más novedosa, el uso de firmas de selección (McRae *et al.*, 2014; Gootwine, 2020).

La selección genética artificial (y también natural) ha dejado huella en los genomas de los animales; estas huellas son conocidas como firmas de selección, las cuales brindan información de los procesos de domesticación y evolución que dieron como resultado las razas de animales que se conocen actualmente. Existen firmas de selección basadas en la construcción de haplotipos que miden la similitud entre segmentos de ADN de dos poblaciones, como la homocigosidad de haplotipo extendida entre poblaciones (XP-EHH) y el estadístico hapFLK. Otro tipo de firmas basadas en la medida individual de diversidad de marcadores son el índice de fijación ( $F_{ST}$ ), la D de Tajima y las corridas de homocigosidad (ROH) (Saravanan *et al.*, 2020). Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue detectar genes candidatos usando las firmas de selección índice de fijación ( $F_{ST}$ ) y corrida de homocigosidad (ROH) en ovejas de la raza Katahdin.

## 1.4 MATERIALES Y MÉTODOS

### 1.4.1 Declaraciones éticas

De acuerdo con el reglamento para el uso y cuidado de los animales destinados a la investigación del Colegio de Postgraduados (COLPOS, 2019), se recolectaron 0.5 ml de sangre por punción de la vena yugular con jeringa estéril por oveja, bajo los criterios de la NOM-062-ZOO-1999 que indica las especificaciones técnicas para la producción, cuidados y usos de animales de laboratorio (SAGARPA, 2001). Estas muestras de sangre se usaron para la genotipificación de los animales.

### 1.4.2 Fenotipos

Se usaron los registros de tres años (2019-2021) del número de crías paridas por oveja por empadre como medida de la fecundidad de 48 ovejas raza Katahdin provenientes de la Unidad de Producción Agropecuaria “Quinta San Francisco”, ubicada en la localidad del Cerrito, municipio de Zempoala, Hidalgo, México; con coordenadas 19°54'56” N, 98°40'12” O y altitud de 2500 m (García, 2004). Las ovejas tenían una edad y número de partos promedio de  $4.48 \pm 1.28$  años y  $3.2 \pm 1.31$ , respectivamente. Además, se observaron el año de registro, edad en años, condición corporal (escala 1-5), horas al estro y número de partos por oveja.

Para el tamaño de muestra usado, se determinó la potencia de la prueba estadística usando el paquete *pwr* (Champely, 2020) de R (R Core Team, 2022). Los valores de entrada de la función en R fueron el tamaño de la muestra (48), la significancia (0.05) y el método ( $\chi^2$ ).

Para realizar el ajuste estadístico de los fenotipos, se usó regresión logística con el modelo gaussiano, con el uso de la función *glm* del paquete *stats* de R (versión 4.2.0; R Core Team, 2022). Las variables explicativas del modelo fueron: año de registro, edad en años, condición corporal, horas al estro y número de parto; mientras que, la variable respuesta fue la fecundidad, medida como el promedio de crías por empadre por año por oveja. De acuerdo con los resultados de la prueba Wald  $\chi^2$ , solo el intercepto del modelo y condición corporal se incorporaron en el ajuste del modelo final ( $p < 0.05$ ):

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1,$$

donde,  $y$  es la fecundidad anual,  $\beta_0$  es el intercepto del modelo,  $\beta_1$  es el estimador asociado con condición corporal y  $x$  es la condición corporal. El ajuste del modelo obtuvo una exactitud de predicción del 75.4 %. Los fenotipos ajustados con este modelo se usaron para realizar el resto de los análisis.

Para verificar la presencia de dos subpoblaciones en la población de ovejas de la raza Katahdin (alta y baja fecundidad), se realizó un análisis de clúster jerárquico y una prueba de diferencias de medias de  $t$ . El análisis de agrupamiento jerárquico se realizó con la matriz de distancias euclidianas de los fenotipos ajustados por el modelo, mediante el paquete *stats* (R Core Team, 2022), mediante las funciones *hclust* y *cutree*, para clasificar a las ovejas en alta y baja fecundidad. Finalmente, se construyó un dendograma circular a partir de los anteriores resultados con la función *circlize\_dendogram* del paquete *dendextend* (Galili, 2015), para observar 23 ovejas clasificadas como de “alta fecundidad” y 25 de “baja fecundidad”.

Se realizó una prueba de  $t$  para determinar si existían diferencias ( $p < 0.05$ ) entre las medias de fecundidad en las subpoblaciones creadas, se usó la función *t.test* del paquete *stats* (R Core Team, 2022) para grupos con varianza no homogénea.

### **1.4.3 Genotipos**

Se genotiparon 48 muestras de sangre de ovejas raza Katahdin con el chip Illumina OvineSNP 50K (NEOGEN, Nebraska, Lincoln, U.S.A. <https://www.neogen.com/>). Para el control de calidad de los genotipos (51,867 marcadores), se eliminaron polimorfismos de un solo nucleótido o puntual (SNP) con un nivel de frecuencia del alelo menor de 0.05, marcadores ubicados en los cromosomas sexuales, aquellos que no se encontraran en equilibrio Hardy Weinberg ( $p > 0.000001$ ) y con un porcentaje de llamada menor al 90 %. El número final de marcadores después del control de calidad fue de 47,084 SNP.

### **1.4.4 Estructura de la población**

Para observar la concordancia de las divergencias fenotípicas y genotípicas de la población, se realizó un análisis de componentes principales (PCA) mediante el paquete

*adegenet* (Jombart and Ahmed, 2011). Las variables de entrada para la reducción de dimensión fueron los 47,084 marcadores SNP y se usó la fecundidad (alta o baja) de las ovejas como variable suplementaria.

#### **1.4.5 Firmas de selección**

Para encontrar las diferentes porciones del genoma con genotipos homocigóticos contiguos (ROH), se utilizó el software PLINK 1.07 (Purcell *et al.*, 2007) para crear los archivos *ped* y *map*. Posteriormente, el paquete *detectRUNS* de R (Biscarini *et al.*, 2019) fue útil para encontrar las porciones del genoma homocigóticas y que además diferían en longitud y tipo entre los grupos de ovejas de alta y baja prolificidad, la función utilizada fue *slidingRuns* para el método de ventanas deslizantes con 50k de apertura. Con la función *plot\_manhattanRuns* del mismo paquete, se construyó una gráfica de Manhattan que muestra los SNP que con mayor frecuencia se detectaron dentro de un ROH por subpoblaciones. Haplotipos formados mediante ROH por encima del 75 % de frecuencia y conformados por tres o más marcadores se consideraron como candidatos.

Por otro lado, se obtuvieron índices de fijación  $F_{ST}$  para ambas subpoblaciones con el uso de los paquetes *pegas* (Paradis, 2010) y *adegenet* (Jombart, 2011). Se calculó la diferencia entre los valores de fijación por SNP entre subpoblaciones, para identificar los SNP con mayor fijación en el caso de las ovejas con alta fecundidad y marcadores con diferencias por encima de 0.2 se consideraron como candidatos.

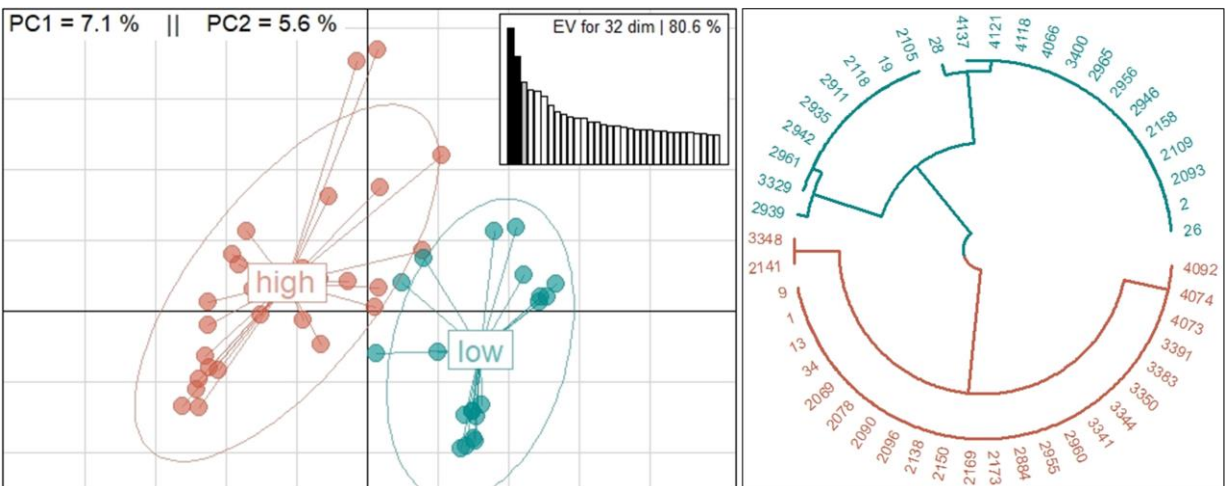
#### **1.4.6 Detección de genes candidatos**

Para encontrar los genes asociados con los marcadores SNP candidatos, se consideraron la posición y el cromosoma. Regiones genómicas con un rango de  $\pm 50K$  pb alrededor del SNP candidato, se consideraron como regiones candidatas con referencia al genoma ([https://www.ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCF\\_000298735.2](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCF_000298735.2), consultado el 15 de junio de 2022); los genes candidatos se detectaron como aquellos hallados en estas regiones.

## 1.5 RESULTADOS

### 1.5.1 Estructura de la población

Para el tamaño de muestra de 48 animales y  $p = 0.05$ , la potencia de la prueba fue de 0.7. La representación gráfica del PCA se observa de lado izquierdo en la Figura 1. Los puntos en el PCA representan las ovejas en estudio, ubicadas en función de su divergencia genotípica; mientras que, las elipses representan los grupos fenotípicamente formados de acuerdo con la fecundidad de las ovejas. Se observan dos grupos genéticos diferenciados de la población de animales, que además coinciden con la clasificación fenotípica dada por la variable suplementaria fecundidad. La media para fecundidad alta de ovejas fue de  $1.3 \pm 0.03$  corderos por empadre; mientras que, para baja fecundidad fue de  $1.1 \pm 0.06$  corderos por empadre ( $p < 0.05$ ). En el lado derecho de la Figura 1 se observa el dendograma circular construido a partir de distancias fenotípicas euclidianas, que ilustra la diferencia significativa ( $p = 3.3 \times 10^{-13}$ ) entre las subpoblaciones de ovejas de alta (azul) y baja (rojo) fecundidad.

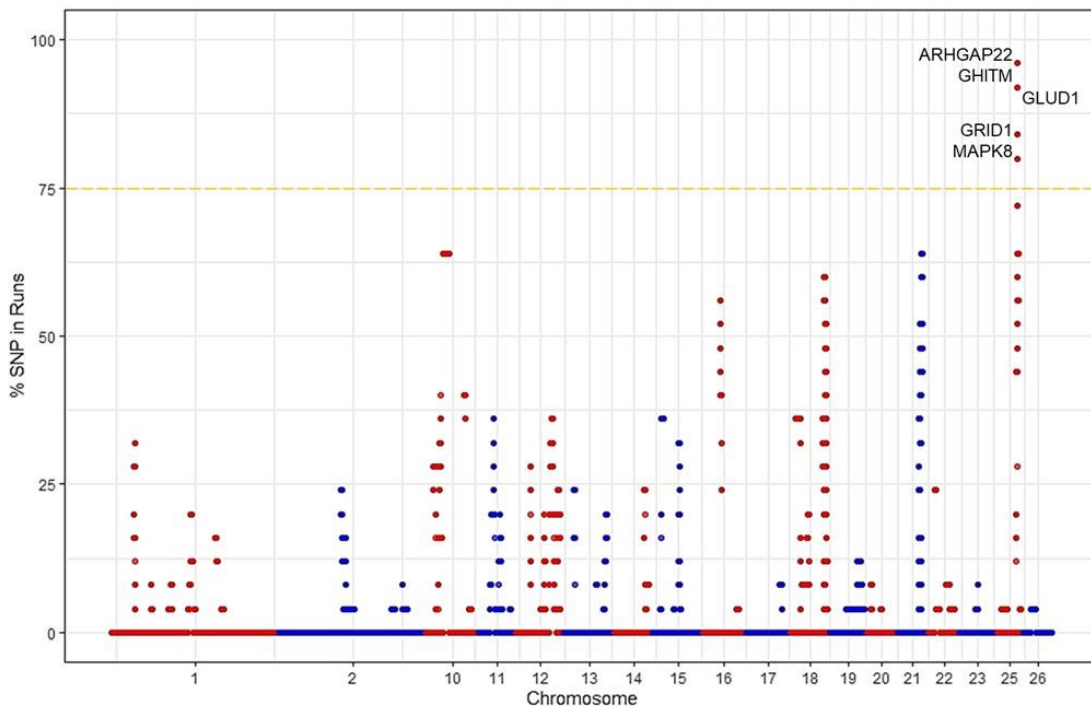


**Figura 1.** Representación gráfica del análisis de componentes principales (PCA izquierda) y dendograma construido a partir de distancias euclidianas (derecha). Ambas representaciones muestran las subpoblaciones de ovejas Katahdin de acuerdo con su nivel de fecundidad (alto o bajo). Para el PCA, se muestran los eigenvalores (EV) de 32 dimensiones cuya suma de varianza es igual que 80.6%; además de la varianza explicada por la primera y la segunda dimensión (PC1 y 2).



### 1.5.2 Genes candidatos

Se encontraron 79 y 14 marcadores candidatos para ROH y  $F_{ST}$  respectivamente. De acuerdo con la información del genoma *Ovis\_aries\_v4.0*, se obtuvieron un total de cinco genes candidatos asociados con baja fecundidad y 10 con alta fecundidad, mediante el método ROH (Figura 2). Por otro lado, con el método  $F_{ST}$  se encontraron otros siete genes candidatos asociados con alta fecundidad (Cuadro 1), diferentes a los detectados por ROH.



**Figure 2.** Distribución genómica de firmas de selección positiva para alta fecundidad usando la frecuencia de polimorfismos de nucleótido simple (SNP) en los diferentes haplotipos hallados por ROH en ovejas Katahdin.

En la Cuadro 1, se observan los genes candidatos encontrados en este estudio asociados con fecundidad, que incluye reportes previos de asociaciones con otras características reproductivas. Mientras que, en la Figura 2 se observa la gráfica de Manhattan para alta fecundidad con los cinco principales genes candidatos identificados

por el método ROH (Cuadro 1), con efectos en la fecundidad de ovejas de la raza Katahdin y en características reproductivas.

En este estudio, se observaron 17 genes asociados con alta fecundidad y cinco para baja fecundidad. Una vez seleccionados estos genes mediante las firmas de selección ( $F_{ST}$  y ROH), se filtraron de acuerdo con funciones previamente reportadas asociadas con reproducción en ovinos, bovinos, ciervos, caballos y cerdos (Cuadro 1).

## 1.6 DISCUSIÓN

### 1.6.1 Estructura de la población

La potencia de la prueba de 0.7 es aceptable para la obtención de diferencias reales significativas. Incluir esta prueba permitió validar los resultados, ya que no se dispone la genotipificación en masa de los animales (Mrode *et al.*, 2019). La limitada información genómica en México retrasa el avance en la aplicación de nuevas metodologías enfocadas en mejoramiento genético.

En estudios de asociación del genoma completo y de diversidad genética, es común el uso de análisis multivariante para caracterizar la estructura genética y fenotípica de las poblaciones. Los métodos más comúnmente empleados son el PCA (Wang *et al.*, 2022; Lei *et al.*, 2021; Duarte *et al.*, 2022) y el escalamiento multidimensional métrico (Iffland *et al.*, 2020; Trujano-Chavez *et al.*, 2022). Así como en otros estudios con ovejas (Kijas *et al.*, 2016; Lei *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2020), en este estudio, el PCA permitió observar gráficamente las diferencias genéticas y fenotípicas de las ovejas Katahdin.

### 1.6.2 Genes candidatos

El gen *CNOT11*, se reportó como gen candidato para tasa de preñez (Sozoniuk *et al.*, 2022). La expresión del gen en ovinos se da principalmente en el útero, las membranas placentarias y el embrión; además, junto con los genes *SDHA*, *PPIA*, *RPS9* y *RPL19*, es uno de los genes marcadores más estables en tejidos reproductivos y fetales (Cheng *et al.*, 2020). En este estudio, con el uso del método  $F_{ST}$ , se encontró que el gen *CNOT11* es candidato para fecundidad en ovejas de la raza Katahdin, con una posible influencia en el éxito de la formación del embrión y la culminación de la preñez (Cheng *et al.*, 2020).

El gen *ANK2* es conocido por su efecto en características productivas. En bovinos afecta la calidad de la carne y la canal (Borges *et al.*, 2014), y en ovinos se ha mostrado que tiene impacto en las características asociadas al crecimiento, como peso al destete y peso de finalización, así como en la calidad de la lana (Mohammadi *et al.*, 2020). En ovinos no se conocen estudios previos sobre el efecto del gen *ANK2* en la reproducción, pero si en la reproducción porcina (Kulus *et al.*, 2021).

Contrario a lo encontrado en este estudio, existen reportes en cerdas del impacto negativo del gen *ANK2* en la estructura de las células de la granulosa, que consecuentemente tiene un efecto negativo en la fecundidad (Kulus *et al.*, 2021). En este estudio, se encontró que el gen *ANK2* está asociado con alta fecundidad en ovejas. El perfil de expresión del gen *ANK2* en los tejidos de la cerda ha sido poco estudiado; sin embargo, parece tener un perfil diferente al de la oveja. En la cerda, la expresión del gen *ANK2* en el ovario es más alta que en la oveja (Jiang *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2017). Por otro lado, la expresión del gen *ANK2* en ovejas es abundante en tejidos del sistema neuro-endócrino, como la pituitaria, el hipotálamo, el cerebelo y el cerebro (Jiang *et al.*, 2014). Probablemente, los efectos reproductivos del *ANK2* difieren entre ovejas y cerdas, debido a la diferencia de tejidos en los que tienen sus mayores expresiones. En la oveja, el efecto del *ANK2* puede deberse a cambios en la secreción y segregación de hormonas; mientras que, en la cerda puede deberse a un efecto local relacionado con el funcionamiento del ovario y órganos sexuales (Jiang *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2017).

No se encontraron reportes previos que asocien al gen *HERC6* con características reproductivas en ovinos; sin embargo, existen reportes de asociaciones con crecimiento, composición de la canal, tamaño corporal, peso, altura y producción de leche (Yurchenko *et al.*, 2019).

**Cuadro 1.** Genes candidatos seleccionados por dos métodos estadísticos de detección de firmas de selección que afectan la fecundidad en ovejas Katahdin y características reproductivas informados en otros estudios.

Método	Gen	Cromosoma	Posición	Función en el organismo
<b>Alta fecundidad</b>				
F <sub>ST</sub>	<i>CNOT11</i>	3	100058810	Tasa de preñez (Sozoniuk <i>et al.</i> , 2022).
	<i>ATG10</i>	5	79156925	Autofagia y defensa inmune innata (Kravitz <i>et al.</i> , 2021 y Sah <i>et al.</i> , 2021).
	<i>RPS23</i>	5	79446021	Síntesis de proteínas e inmunidad (Wang <i>et al.</i> , 2022 <sup>a</sup> ).
	<i>ANK2</i>	6	12314476	Estructura de las células de la granulosa (Kulus <i>et al.</i> , 2021).
	<i>CAMK2D</i>	6	11870774	Metabolismo de las grasas y calidad de la carne (Luo <i>et al.</i> , 2022).
	<i>STK32B</i>	6	103213333	Deposición de grasa y marmoleo (Wang <i>et al.</i> , 2015).
	<i>UGT8</i>	6	11004274	Desarrollo y función de los sistemas nervioso y endocrino (Kim <i>et al.</i> , 2015).
ROH	<i>ADIRF</i>	25	41056054	Deposición de tejido adiposo (Wang <i>et al.</i> , 2021).
	<i>ARHGAP22</i>	25	42255625	Fertilidad, metabolismo de los lípidos, resistencia a la insulina y respuesta inflamatoria (Klein <i>et al.</i> , 2021).
	<i>GHITM</i>	25	38626280	Metritis y fertilidad (Piersanti <i>et al.</i> , 2019).
	<i>GLUD1</i>	25	41085197	Desarrollo y maduración folicular (Wang <i>et al.</i> , 2022b).
	<i>GRID1</i>	25	39879600	Tamaño de la camada (Gholizadeh y Esmaeili-Fard, 2021)
	<i>LRIT1</i>	25	38706733	Energía celular (Steinhauser <i>et al.</i> , 2021).
	<i>MAPK8</i>	25	42210625	Desarrollo folicular (Nan <i>et al.</i> , 2021).
	<i>MMRN2</i>	25	41018603	Diferenciación celular u organogénesis (Weldenegodguad <i>et al.</i> , 2021).
	<i>TRNAC-GCA</i>	25	39208014	Concentración de urea plasmática y calidad del esperma (De Souza <i>et al.</i> , 2021 y Michailidou <i>et al.</i> , 2019).
	<i>VSTM4</i>	25	42748968	Células del cúmulo y transferencia nuclear de células somáticas (Min <i>et al.</i> , 2015).
<b>Baja fecundidad</b>				
ROH	<i>HERC6</i>	6	36181502	Tasa de preñez (Forde <i>et al.</i> , 2012).
	<i>CCL28</i>	16	31346400	Colonización de linfocitos de tejidos fetales (Meurens <i>et al.</i> , 2007).
	<i>GHR</i>	16	31832298	crecimiento, calidad de la canal, producción de leche y diferenciación celular (Cobanoglu <i>et al.</i> , 2021).
	<i>HMGCS1</i>	16	31409821	Biosíntesis de colesterol (Steele <i>et al.</i> , 2012).
	<i>DPF2</i>	21	42741418	Fertilidad (De Souza <i>et al.</i> , 2022).

Se encontró que el gen *HERC6*, junto con los genes *PARP12*, *RNF213* y *ZNFX1*, está involucrado en la gestación temprana de bovinos (día 18; Forde *et al.*, 2012). El papel principal de estos genes, regulados por el *IFNT*, es la respuesta inmune para establecer y mantener la receptividad uterina a la implantación (Forde *et al.*, 2012).

En nuestro estudio, el gen *HERC6*, detectado mediante ROH, resultó ser gen candidato para baja fecundidad, lo que sugiere la confirmación de su efecto en la gestación temprana en ovinos, así como en bovinos. El que este gen se encuentre fuertemente fijado en ovejas con baja fecundidad, podría ser indicativo de su efecto negativo en la especie, ya que al parecer el perfil de expresión del gen en ambas especies es el mismo (Jiang *et al.*, 2014; Forde *et al.*, 2012), con significativa presencia durante los primeros 20 días de gestación en útero y cérvix.

Los genes *CCL25* y *CCL28* se encontraron con alta expresión durante el desarrollo fetal temprano en ovinos (Murens *et al.*, 2007). Particularmente el gen *CCL28*, se asocia con el reclutamiento de células inmunes en el bazo y la mucosa nasal del feto, lo que conlleva al desarrollo de un sistema inmunológico funcional pre-nacimiento. Además, existe evidencia de la influencia del gen durante el traspaso de anticuerpos durante la lactancia (Murens *et al.*, 2007). El gen *CCL28* influye también en la inmunidad gástrica de los animales en cualquier etapa de la vida (Meurens *et al.*, 2007). En nuestro estudio, *CCL28* resultó ser un gen candidato para baja fecundidad, lo que señala una relación negativa entre el nivel de inmunidad innata de las crías y el número de corderos nacidos por oveja por empadre.

Esta investigación confirma a los genes *DPF2*, *ARHGAP22* y *GHITM* como candidatos para fecundidad en ovinos Katahdin. En bovinos, el gen *DPF2* se reportó como candidato para fertilidad y características reproductivas (Fonseca *et al.*, 2018); además, la expresión del gen en ovinos es alta en tejidos sexuales, como testículos, útero y ovarios (Jiang *et al.*, 2014). Por otro lado, el gen *ARHGAP22* fue reportado en varias especies como candidato para características reproductivas femeninas (Klein *et al.*, 2021), la expresión del gen principalmente se da en las membranas placentarias y en el ovario (Jiang *et al.*, 2014), lo que sugiere un efecto sobre la persistencia de la gestación en

ovinos. El gen *GHITM* se ha asociado con la persistencia de metritis y características reproductivas en vacas Holstein; se encontró que juega un papel determinante en la respuesta inmune del organismo ante una infección bacteriana (metritis), particularmente en el ciclo, el metabolismo y la comunicación celular (Piersanti *et al.*, 2019). Además, existe evidencia de la alta expresión del gen *GHITM* en cuerpo lúteo, ovarios y útero (Jiang *et al.*, 2014).

En este estudio se hallaron genes candidatos para alta fecundidad que se han reportado pocas veces en literatura con efecto en características reproductivas. El gen *GLUD1* se asoció con el metabolismo del carbono que se da durante el desarrollo y la maduración folicular en ovinos (Wang *et al.*, 2022b), aunque no existen reportes de sus niveles de expresión en órganos relacionados con reproducción; este gen puede afectar de manera importante la fecundidad de ovinos de la raza Katahdin. Otro gen sin reportes de expresión en ovinos es el gen *TRNAC-GCA*; en bovinos, este gen afecta la calidad espermática (Michailidou *et al.*, 2019). En este estudio se encontró que el gen *TRNAC-GCA* está asociado con alta fecundidad en ovejas Katahdin, lo que confirma la importancia del gen en características reproductivas al menos en bovinos y ovinos.

El gen *MAPK8* es importante en la reproducción ovina. En este estudio de asociación, se confirma su efecto en la alta fecundidad de ovejas Katahdin. El gen *MAPK8* tiene una expresión alta en órganos asociados con la reproducción, como ovarios, pituitaria, tejidos embrionarios y testículos (Jiang *et al.*, 2014). Es uno de los genes más estudiados en ovejas, ya que participa en los procesos fisiológicos del ovario, particularmente en las células de la granulosa, donde es parte del desarrollo folicular y consecuentemente, afecta características asociadas con fertilidad como fecundidad y prolificidad (Relav *et al.*, 2021; Nan *et al.*, 2021).

Uno de los genes que más se ha asociado con características reproductivas en ovinos es el gen *GRID1* (Gholizadeh & Esmaeili-Fard, 2022). En este estudio se asoció con alta fecundidad de ovejas Katahdin; mientras que, en otros estudios se asoció con tamaño de la camada (Gholizadeh & Esmaeili-Fard, 2021) y fertilidad (Nosrati *et al.*, 2018). La expresión del gen *GRID1* en ovinos parece darse en órganos del sistema

neuroendocrino, en particular en el hipotálamo y el cerebro, en menor cantidad se tienen reportes de su expresión en testículos y ovarios (Jiang *et al.*, 2014).

En esta investigación, consideramos candidatos a otros genes que no se han relacionado previamente con características reproductivas, pero cuya función en el organismo podría influir indirectamente sobre los procesos fisiológicos que dan lugar a los fenómenos reproductivos. Por ejemplo,  $F_{ST}$  nos permitió determinar que los genes *ATG10* y *RPS23* son candidatos para alta fecundidad en ovejas; sin embargo, la principal acción de los genes se da en el sistema inmune, que indirectamente pudo impactar la fecundidad de las ovejas en estudio (Kravitz *et al.*, 2021; Sah *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2022a).

Por otro lado, genes candidatos para el metabolismo de la grasa y energía también pueden estar indirectamente relacionados con la reproducción (como se encontró en este estudio), dada la composición lipídica de algunas hormonas reproductivas como testosterona, progesterona y prostaglandina. Así, los genes que se encuentran en esta situación son: *CAMK2D* (Luo *et al.*, 2022), *STK32B* (Wang *et al.*, 2015), *HMGCS1* (Steele *et al.*, 2012), *ADIRF* (Wang *et al.*, 2021), *LRIT1* (Steinhauser *et al.*, 2021) y *UGT8* (Kim *et al.*, 2016).

## 1.7 CONCLUSIONES

Esta investigación es la primera en encontrar genes candidatos para fecundidad en ovejas de la raza Katahdin de México. Estos genes candidatos se detectaron mediante firmas de selección  $F_{ST}$  y ROH, las cuales confirmaron la influencia de los cinco genes *CNOT11*, *GLUD1*, *GRID1*, *MAPK8* y *CCL28* en las características de fertilidad en ovinos; además, se detectaron otros seis nuevos genes candidatos no reportados previamente para esta especie: *ANK2* (cerdos), *ARGHGAP22* (vacas), *GHITM* (vacas), *HERC6* (vacas), *DPF2* y *TRNAC-GCA* (vacas). Los 17 nuevos genes candidatos para fecundidad en ovinos, encontrados en este estudio, parecen tener una expresión alta en órganos reproductivos. Sin embargo, se requieren estudios para dilucidar la base fisiológica de los cambios en el comportamiento reproductivo influido por estos genes.

## **1.8 AGRADECIMIENTOS**

Los autores agradecen al CONACYT por el apoyo financiero otorgado a la primera autora durante los años de sus estudios de Maestría en Ciencias. Los autores también agradecen al Campus Montecillo, Colegio de Postgraduados, por el apoyo financiero para realizar esta investigación y a las Líneas de Generación y/o Aplicación del Conocimiento: Innovación Tecnológica y Seguridad Alimentaria en Ganadería (Campus Montecillo) y Manejo Sustentable de Recursos Naturales (Campus SLP); así como al rancho “Quinta San Francisco”, municipio de Zempoala, estado de Hidalgo, por facilitar el grupo de ovejas de la raza Katahdin para la obtención de datos y al M.C. Dante Josafet Hernández Rubio por su apoyo en la logística de manejo de las ovejas.



## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES GENERALES

### Conclusiones

En México, es importante el estudio genético de las razas adaptadas a las condiciones climáticas y alimenticias, ya que existe muy poca información al respecto. Es importante caracterizar la base genética de las características de importancia económica para lograr la eficiencia productiva de los rebaños. Específicamente en ovejas, mejorar la prolificidad y fecundidad es clave para el éxito productivo. Por tanto, en este estudio se trató de dar respuesta parcial a la base fisiológica de la fecundidad en ovejas, y es el primero en detectar genes candidatos para ovejas Katahdin en México. Se detectaron seis nuevos genes candidatos asociados con fecundidad no reportados previamente para ovejas: *ANK2*, *ARGHGAP22*, *GHITM*, *HERC6*, *DPF2* y *TRNAC-GCA*.

Así como se demostró en este estudio y en otros aquí mencionados, las firmas de selección son útiles en el entendimiento de los procesos evolutivos que dan origen a las especies y razas actualmente conocidas. Además, las firmas de selección son útiles en la búsqueda de genes candidatos asociados con características de importancia económica difíciles de mejorar como lo son las características reproductivas en ovejas.

### Recomendaciones

Dados los resultados presentados en este documento de tesis, se recomienda a los productores de ovejas y asociaciones ganaderas en general, facilitar las colaboraciones con instituciones de enseñanza e investigación para crear proyectos relacionados con mejoramiento genético a través de genotipados con chips genómicos comerciales. Lo anterior, para mejorar el entendimiento de los genes asociados con reproducción en los rebaños. Encontrando así beneficios tanto para los productores (mejorando la genética y productividad de sus hatos) como para los investigadores (con el descubrimiento de variantes genéticas de importancia científica).

## LITERATURA CITADA

- Aké-López, J.J.R., W.M. Monforte-Madariaga, J.R. Aké-Villanueva and J. Segura-Correa. 2019. Dorper and Dorper x Pelibuey ewes do not show season effect on reproductive activity under subhumid tropical conditions. *Livestock Research for Rural Development* 31. <http://www.lrrd.org/lrrd31/9/segu31147.html> (Retrieved November 14, 2022)
- Alqudah, A.M., A. Sallam, P. Stephen Baenziger, and A. Börner. 2020. GWAS: Fast-Forwarding Gene Identification in Temperate Cereals: Barley as a Case Study- A review. *Journal of Advanced Research* 22: 119-135 <https://doi.org/10.1016/j.jare.2019.10.013>
- Biscarini, F. P. Cozzi, G. Gaspa, G. Marras. 2019. detectRUNS: Detect Runs of Homozygosity and Runs of Heterozygosity in Diploid Genomes. R package version 0.9.6. <https://CRAN.R-project.org/package=detectRUNS>.
- Borges, B.O., R.A. Curi, F. Baldi, F.L.B. Feitosa, W.B.F.D. Andrade, L.G.D. Albuquerque, ..., L.A.L. Chardulo. 2014. Polymorphisms in candidate genes and their association with carcass traits and meat quality in Nellore cattle. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 49: 364–371. <https://doi.org/10.1590/s0100-204x2014000500006>
- Bowles, D., A. Carson, P. Isaac. 2014. Genetic distinctiveness of the Herdwick sheep breed and two other locally adapted hill breeds of the UK. *PLOS ONE* 9, e87823.
- Cobanoglu, O., E. Kul, E. Gurcan, S. Abaci, S. Cankaya. 2021. Determination of the association of GHR/Alul gene polymorphisms with milk yield traits in Holstein and Jersey cattle raised in Turkey. *Archives of Animal Breeding* 64: 417-424. <https://doi.org/10.5194/aab-64-417-2021>
- Cockrum, R.R., Pickering, N.K., Anderson, R.M., Hyndman, D.L., Bixley, M.J., Dodds, K.G., ..., Cammack, K.M. 2012. Identification of single nucleotide polymorphisms associated with feed efficiency in rams. *Proceedings, Western Section, American Society of Animal Science*, 63.
- COLPOS (Colegio de Postgraduados). 2019. Reglamento para el uso y cuidado de animales destinados a la investigación en el Colegio de Postgraduados. Dirección de Investigación: Colegio de Posgraduados, México. [http://www.colpos.mx/wb\\_pdf/norma\\_interna/reglamento\\_usoycuidadoanimales\\_050819.pdf](http://www.colpos.mx/wb_pdf/norma_interna/reglamento_usoycuidadoanimales_050819.pdf)
- Champely S. 2020. pwr: Basic Functions for Power Analysis. R package version 1.3-0. <https://CRAN.R-project.org/package=pwr>
- Chay-Canul, A.J., R.A. García-Herrera, J.G. Magaña-Monforte, U. Macias-Cruz, C. Luna-Palomera. 2019. Productividad de ovejas Pelibuey y Katahdin en el trópico húmedo. *Ecosistemas y recursos agropecuarios* 6(16): 159-165. <https://doi.org/10.19136/era.a6n16.1872>

- Cheng, L., J. Yu, X. Hu, M. Xiang, Y. Xia, B. Tao, X. Du, D. Wang, S. Zhao, H. Chen. 2020. Identification of reliable reference genes for expression studies in maternal reproductive tissues and foetal tissues of pregnant cows. *Reproduction in Domestic Animals* 55: 1554–1564. <https://doi.org/10.1111/rda.13808>
- Davis, T.C., White, R.R. 2020. Breeding animals to feed people: The many roles of animal reproduction in ensuring global food security. *Theriogenology*, 150, 27-33. <https://doi.org/j.theriogenology.2020.01.041>
- Díez, D.F., L.F. Sánchez, V. Moreno, F. Moratalla-Navarro, A.J. Molina de la Torre, V. Martín Sánchez. 2021. GASVeM: A new machine learning methodology for multi-SNP analysis of GWAS data based on genetic algorithms and support vector machines. *Mathematics* 9: 654. <https://doi.org/10.3390/math9060654>
- Duarte, I.N.H., A.F. Bessa, L.D. Rola, M.V.H. Genuíno, I.M. Rocha, C.R. Marcondes, M.C. Righetti, ..., B.M. Eli. 2022. Cross-population selection signatures in Canchim composite beef cattle. *PLOS ONE* 17: e0264279. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0264279>
- Dutta, P., A. Talenti, R. Young, S. Jayaraman, R. Callaby, S.K. Jadhav, ..., J.G.D. Prendergast. 2020. Whole genome analysis of water buffalo and global cattle breeds highlights convergent signatures of domestication. *Nature Communications*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18550-1>
- Esmaeili-Fard, S.M., M. Gholizadeh, S.H. Hafezian, R. Abdollahi-Arpanahi. 2021. Genome-wide association study and pathway analysis identify NTRK2 as a novel candidate gene for litter size in sheep. *PLOS ONE*, 16(1): e0244408. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0244408>
- FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2022. FAOSTAT Statistics Database. <http://www.fao.org/faostat/en/#data>. (Accessed 10 November 2022).
- Fonseca, P., S. Id-Lahoucine, A. Reverter, J. Medrano, M. Fortes, J. Casellas, ..., A. Cánovas. 2018. Combining multi-OMICs information to identify key-regulator genes for pleiotropic effect on fertility and production traits in beef cattle. *PLOS ONE* 13: e0205295. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205295>
- Forde, N., G.B. Duffy, P.A. McGettigan, J.A. Browne, J.P. Mehta, A.K. Kelly, N., ..., A.C.O. Evans. 2012. Evidence for an early endometrial response to pregnancy in cattle: both dependent upon and independent of interferon tau. *Physiological Genomics* 44: 799-810. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00067.2012>
- Galili, T. 2015. dendextend: an R package for visualizing, adjusting, and comparing trees of hierarchical clustering. *Bioinformatics* 31: 3718–3720. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv428>
- García E. 2004. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen: para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana - 5ta Edición. Instituto de

- Gebreselassie, G., H. Berihulay, L. Jiang, Y. Ma. 2019. Review on Genomic Regions and Candidate Genes Associated with Economically Important Production and Reproduction Traits in Sheep (*Ovis aries*). *Animals* 10: 33. <https://doi.org/10.3390/ani10010033>
- Ghiasi, H., R. Abdollahi-Arpanahi. 2021. The candidate genes and pathways affecting litter size in sheep. *Small Ruminant Research* 205:106546. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2021.106546>
- Gholizadeh, M., S.M. Esmaeili-Fard. 2022. Meta-analysis of genome-wide association studies for litter size in sheep. *Theriogenology* 180: 103–112. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2021.12.025>
- González-Godínez, A., J. Urrutia-Morales, H.G. Gámez-Vázquez. 2014. Comportamiento reproductivo de ovejas Dorper y Katahdin empadradas en primavera en el norte de México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 17(1): 123-127.
- Gootwine, E. 2020. Invited Review: Opportunities for Genetic Improvement toward Higher Prolificacy in Sheep. *Small Ruminant Research*, 186, 106090. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2020.106090>
- Gouveia, J. J. de S., M.V.G.B. da Silva, S.R. Paiva, S.M.P. de Oliveira. 2014. Identification of selection signatures in livestock species. *Genetics and Molecular Biology* 37(2): 330–342. <https://doi.org/10.1590/s1415-47572014000300004>
- Habeeb, H. M. H., M. Anne Kutzler. 2021. Estrus Synchronization in the Sheep and Goat. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 37(1): 125–137. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2020.10.007>
- Hayes, B. 2013. Overview of statistical methods for genome-wide association studies (GWAS). *Genome-wide association studies and genomic prediction. Methods in Molecular Biology* 1019: 149–169. [https://doi.org/10.1007/978-1-62703-447-0\\_6](https://doi.org/10.1007/978-1-62703-447-0_6)
- Hernández-Marín, J. A., Valencia-Posadas, M., Ruíz-Nieto, J. E., Mireles-Arriaga, A. I., Cortez-Romero, C., Gallegos-Sánchez, J. 2017. Contribución de la ovinocultura al sector pecuario en México. *Agroproductividad*, 10(3).
- Iffland, H., R. Wellmann, M. Schmid, S. Preuß, J. Tetens, W. Bessei, J. Bennewitz. 2020. Genomewide Mapping of Selection Signatures and Genes for Extreme Feather Pecking in Two Divergently Selected Laying Hen Lines. *Animals* 10: 262. <https://doi.org/10.3390/ani10020262>
- Ivanova, T., R. Stoikova-Grigorova, M. Bozhilova-Sakova, M. Ignatova, I. Dimitrova, V. Koutev. 2021. Phenotypic and genetic characteristics of fecundity in sheep. A review. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 27: 1002–1008.

- Jiang, Y., M. Xie, W. Chen, R. Talbot, J.F. Maddox, T. Faraut, ..., B.P. Dalrymple. 2014. The sheep genome illuminates biology of the rumen and lipid metabolism. *Science* 344: 1168–1173. <https://doi.org/10.1126/science.1252806>
- Jombart, T., I. Ahmed. 2011. adegenet 1.3-1: new tools for the analysis of genome-wide SNP data. *Bioinformatics* 27: 3070–3071. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr521>
- Joy, A., F.R. Dunshea, B.J. Leury, I.J. Clarke, K. DiGiacomo, S.S. Chauhan. 2020. Resilience of Small Ruminants to Climate Change and Increased Environmental Temperature: A Review. *Animals* 10: 867. <https://doi.org/10.3390/ani10050867>
- Kijas, J.W., T. Hadfield, S.M. Naval, N. Cockett. 2016. Genome-wide association reveals the locus responsible for four-horned ruminant. *Animal Genetics* 47: 258–262. <https://doi.org/10.1111/age.12409>
- Kim, E., A. Elbeltagy, A. Aboul-Naga, B. Rischkowsky, B. Sayre, J. Mwacharo, M. Rothschild. 2015. Multiple genomic signatures of selection in goats and sheep indigenous to a hot arid environment. *Heredity* 116: 255–264. <https://doi.org/10.1038/hdy.2015.94>
- Klein, S., T. Yin, H. Swalve, S. König. 2021. Single-step genomic best linear unbiased predictor genetic parameter estimations and genome-wide associations for milk fatty acid profiles, interval from calving to first insemination, and ketosis in Holstein cattle. *Journal of Dairy Science* 104: 10921–10933. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20416>
- Korte, A., A. Farlow. 2013. The advantages and limitations of trait analysis with GWAS: a review. *Plant Methods* 9(1): 29. <https://doi.org/10.1186/1746-4811-9-29>
- Kravitz, A., K. Pelzer, N. Sriranganathan. 2021. The Paratuberculosis Paradigm Examined: A Review of Host Genetic Resistance and Innate Immune Fitness in *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* Infection. *Frontiers in Veterinary Sciences* 945. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.721706>
- Kulus, J., M. Kulus, W. Kranc, K. Jopek, M. Zdun, M. Józkiwiak, ..., B. Kempisty. 2021. Transcriptomic Profile of New Gene Markers Encoding Proteins Responsible for Structure of Porcine Ovarian Granulosa Cells. *Biology* 10: 1214. <https://doi.org/10.3390/biology10111214>
- Lei, Z., W. Sun, T. Guo, J. Li, S. Zhu, Z. Lu, G., ..., Y. Yue. 2021. Genome-Wide Selective Signatures Reveal Candidate Genes Associated with Hair Follicle Development and Wool Shedding in Sheep. *Gene* 12: 1924. <https://doi.org/10.3390/genes12121924>
- Li, M., L. Chen, S. Tian, Y. Lin, Q. Tang, X. Zhou, ..., X. Li. 2016. Comprehensive variation discovery and recovery of missing sequence in the pig genome using multiple de novo assemblies. *Genome Research* 27: 865–874. <https://doi.org/10.1101/gr.207456.116>

- Li, X., J. Yang, M. Shen, X.-L. Xie, G.-J. Liu, Y.-X. Xu, ..., Li, M.-H. 2020. Whole-genome resequencing of wild and domestic sheep identifies genes associated with morphological and agronomic traits. *Nature Communications* 11:1-16. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16485-1>
- Lucio, R., Sesento, L., Bedolla, J. L. C., Cruz, A. R. 2018. Parámetros genéticos para pie de cría en ovinos de la raza katahdin Genetic parameters for breeding stock in sheep of katahdin race. *Naturales y Agropecuarias*, 5(16), 1-5. [https://www.ecorfan.org/bolivia/researchjournals/Ciencias\\_Naturales\\_y\\_Agropecuarias/vol5num16/Revista\\_de\\_Ciencias\\_Naturales\\_y\\_Agropecuarias\\_V5\\_N16\\_1.pdf](https://www.ecorfan.org/bolivia/researchjournals/Ciencias_Naturales_y_Agropecuarias/vol5num16/Revista_de_Ciencias_Naturales_y_Agropecuarias_V5_N16_1.pdf)
- Luo, R., X. Dai, L. Zhang, G. Li, Z. Zheng. 2022. Genome-Wide DNA Methylation Patterns of Muscle and Tail-Fat in Dairy Meade Sheep and Mongolian Sheep. *Animals* 12: 1399. <https://doi.org/10.3390/ani12111399>
- Mariadassou, M., Y. Ramayo-Caldas, M. Charles, M. Féménia, G. Renand, D. Rocha. 2020. Detection of selection signatures in Limousin cattle using whole-genome resequencing. *Animal Genetics* 51(5): 815-819. <https://doi.org/10.1111/age.12982>
- Mazinani, M., B. Rude. 2020. Population, World Production and Quality of Sheep and Goat Products. *American Journal of Animal and Veterinary Science* 15: 291-299. <https://doi.org/10.3844/ajavsp.2020.291.299>
- McRae, K.M., J.C. McEwan, K.G. Dodds, N.J. Gemmell. 2014. Signatures of selection in sheep bred for resistance or susceptibility to gastrointestinal nematodes. *BMC Genomics* 15: 637. doi:10.1186/1471-2164-15-637
- Meurens, F., J. Whale, R. Brownlie, T. Dybvig, D. Thompson, V. Gerds. 2007. Expression of mucosal chemokines TECK/CCL25 and MEC/CCL28 during fetal development of the ovine mucosal immune system. *Immunology* 120(4): 544-555. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2006.02532.x>
- Michailidou, S., G.T. Tsangaris, A. Tzora, I. Skoufos, G. Banos, A. Argiriou, G. Arsenos. 2016. Analysis of genome-wide DNA arrays reveals the genomic population structure and diversity in autochthonous Greek goat breeds. *PLOS ONE* 14: e0226179. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0226179>
- Mignon-Grasteau, S., A. Boissy, J. Bouix, J.-M. Faure, A.D. Fisher, G.N. Hinch, P., ..., C. Beaumont. 2005. Genetics of adaptation and domestication in livestock. *Livestock Production Science* 93: 3-14. <https://doi.org/10.1016/j.livprodsci.2004.11.001>
- Min, B., S. Cho, J.S. Park, Y.G. Lee, N. Kim, Y.K. Kang. 2015. Transcriptomic Features of Bovine Blastocysts Derived by Somatic Cell Nuclear Transfer. *G3: Genes Genomes Genetics* 5: 2527–2538. <https://doi.org/10.1534/g3.115.020016>
- Mohammadi, H., S. Rafat, H. Moradi Shahrababak, J. Shodja, M. Moradi. 2020. Genome-wide association study and gene ontology for growth and wool characteristics in

- Zandi sheep. *Journal of Livestock Science and Technology* 8: 45-55.  
<https://doi.org/10.22103/jlst.2020.15795.1317>
- Mortezaei, Z., M. Tavallaee. 2021. Novel directions in data pre-processing and genome-wide association study (GWAS) methodologies to overcome ongoing challenges. *Informatics in Medicine Unlocked* 24: 100586.  
<https://doi.org/10.1016/j.imu.2021.100586>
- Mrode, R., J.M.K. Ojango, A.M. Okeyo, J.M. Mwacharo. 2019. Genomic selection and use of molecular tools in breeding programs for indigenous and crossbred cattle in developing countries: Current status and future prospects. *Frontiers in Genetics* 9: 694. <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00694>
- Muñoz-García, C., G. Torres-Hernández, J. Gallegos-Sánchez, J.M. Cuca-García, J. Salazar-Ortiz, C. Cortez-Romero. 2020. Función de genes de la fecundidad en tasa ovulatoria y tamaño de la camada en ovejas. *Agro Productividad*, 13(6). <https://doi.org/10.32854/agrop.v13i6.1630>
- Nan, Y., Y. Xie, M. Zhu, H. Yang, Z. Zhao. 2021. MicroRNA-200c Mediates the Mechanism of MAPK8 Gene Regulating Follicular Development in sheep. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 27: 279-284.  
<https://doi.org/10.9775/kvfd.2020.24981>
- Naval-Sanchez, M., Q. Nguyen, S. McWilliam, L.R. Porto-Neto, R. Tellam, T. Vuocolo, ..., J. Kijas. 2018. Sheep genome functional annotation reveals proximal regulatory elements contributed to the evolution of modern breeds. *Nature Communications* 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-017-02809-1>
- Nosrati, M., H. Asadollahpour Nanaei, Z. Amiri Ghanatsaman, A. Esmailzadeh. 2018. Whole genome sequence analysis to detect signatures of positive selection for high fecundity in sheep. *Reproduction in Domestic Animals* 54, 358-364.  
<https://doi.org/10.1111/rda.13368>
- Notter, D. 2008. Genetic Aspects of Reproduction in Sheep. *Reproduction in Domestic Animals* 43: 122–128. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01151.x>
- Paradis, E. 2010. pegas: an R package for population genetics with an integrated-modular approach. *Bioinformatics* 26: 419-420.  
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp696>
- Piersanti, R., A. Horlock, J. Block, J. Santos, I. Sheldon, J. Bromfield. 2019. Persistent effects on bovine granulosa cell transcriptome after resolution of uterine disease. *Reproduction* 158: 35-46. <https://doi.org/10.1530/rep-19-0037>
- Purcell, S., B. Neale, K. Todd-Brown, L. Thomas. M.A.R. Ferreira, D. Bender, D., ..., P.C. Sham. 2007. PLINK: a toolset for whole-genome association and population-based linkage analysis. *The American Journal of Human Genetics* 81: 559-575.  
<https://doi.org/10.1086/519795>

- R Core Team. 2021. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Relav, L., A. Estienne, C.A. Price. 2021. Dual-specificity phosphatase 6 (DUSP6) mRNA and protein abundance is regulated by fibroblast growth factor 2 in sheep granulosa cells and inhibits c-Jun N-terminal kinase (MAPK8) phosphorylation. *Molecular Cellular Endocrinology* 531: 111297. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2021.111297>
- SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca, y Alimentación). 2001. Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Diario Oficial de La Federación, 22 Agosto, 2001, 107–165. Retrieved from [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/203498/NOM-062-ZOO-1999\\_220801.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/203498/NOM-062-ZOO-1999_220801.pdf)
- Sah, N., G. Wu, F.W. Bazer. 2021. Regulation of Gene Expression by Amino Acids in Animal Cells. In: Wu, G. (eds). *Amino Acids in Nutrition and Health. Advances in Experimental Medicine and Biology* 1332: 1-15. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-74180-8\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-030-74180-8_1)
- Saravanan, K.A., Panigrahi, M., Kumar, H., Bhushan, B., Dutt, T., Mishra, B. P. (2020). Selection signatures in livestock genome: A review of concepts, approaches and applications. *Livestock Science*, 241, 104257. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.104257>
- Silva, J., R. Van den Hurk, H. Van Tol, B. Roelen, J. Figueiredo. 2005. Expression of growth differentiation factor 9 (GDF9), bone morphogenetic protein 15 (BMP15), and BMP receptors in the ovaries of goats. *Molecular Reproduction and Development* 70: 11–19. <https://doi.org/10.1002/mrd.20127>
- Simões, J., Abecia, J.A., Cannas, A., Delgadillo, J.A., Lacasta, D., Voigt, K., Chemineau, P. 2021. Review: Managing sheep and goats for sustainable high yield production. *Animal*, 100293. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2021.100293>
- Smółucha, G., Gurgul, A., Jasielczuk, I., Kawęcka, A., Miksza-Cybulska, A. 2021. A genome-wide association study for prolificacy in three Polish sheep breeds. *Journal of Applied Genetics*, 62(2), 323–326. <https://doi.org/10.1007/s13353-021-00615-6>
- Souza, T.C., T.C. de Souza, G.A. Rovadoscki, L.L. Coutinho, G.B. Mourão, G.M.F. de Camargo, ..., L.F.B. Pinto. 2021. Genome-wide association for plasma urea concentration in sheep. *Livestock Science* 248: 104483. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2021.104483>
- Sozoniuk, M., M. Jamio, M. Kankofer, K. Kowalczyk. 2022. Reference gene selection in bovine caruncular epithelial cells under pregnancy-associated hormones exposure. *Research square* 12. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1601070/v1>



- Steele, M., L. L. Dionissopoulos, O. AlZahal, J. Doelman, B. McBride. 2012. Rumen epithelial adaptation to ruminal acidosis in lactating cattle involves the coordinated expression of insulin-like growth factor-binding proteins and a cholesterolgenic enzyme. *Journal of Dairy Science* 95: 318-327. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4465>
- Steinhauser, C. B., C.A. Lambo, K. Askelson, G.W. Burns, S.K. Behura, T.E. Spencer, ..., M.C. Satterfield. 2021. Placental Transcriptome Adaptations to Maternal Nutrient Restriction in Sheep. *International Journal of Molecular Sciences* 22: 7654. <https://doi.org/10.3390/ijms22147654>
- Trujano-Chavez, M.Z., A. Ruíz-Flores, R. López-Ordaz, P. Pérez-Rodríguez. 2022. Genetic diversity in reproductive traits of Braunvieh cattle determined with SNP markers. *Veterinary Medicine and Science* 8(4): 1709-1720. <https://doi.org/10.1002/vms3.836>
- UNO, Unidad Nacional de Ovinoculturas. 2022. Katahdin. [https://www.uno.org.mx/razas\\_ovinas/katahdin.html](https://www.uno.org.mx/razas_ovinas/katahdin.html)
- Vázquez-Martínez, I., J. Jaramillo-Villanueva, A. L. Bustamante-González, S. Vargas-López, F. Calderón-Sánchez, G. Torres-Hernández, W. Pittroff. 2018. Structure and typology of sheep production units in central México. *Agricultura, sociedad y desarrollo* 15: 85-97. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1870-54722018000100085&lng=es&tlng=en](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-54722018000100085&lng=es&tlng=en)
- Villarreal-Ornelas E.C., C. Navarrete-Molina, C.A. Meza-Herrera, M.A. Herrera-Machuca, J.R. Altamirano-Cardenas, U. Macias-Cruz, ..., F.G. Veliz-Deras, Sheep production and sustainability in Latin America & the Caribbean: A combined productive, socio-economic & ecological footprint approach. *Small Ruminant Research* 211: 106675. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2022.106675>.
- Wang, H., L. Zhang, J. Cao, M. Wu, X. Ma, Z. Liu, ..., L. Du. 2015. Genome-Wide Specific Selection in Three Domestic Sheep Breeds. *PLOS ONE* 10: e0128688. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128688>
- Wang, H., X. Feng, G. Muhatai, L. Wang. 2022b. Expression profile analysis of sheep ovary after superovulation and estrus synchronisation treatment. *Veterinary Medicine and Science* 8: 1276-1287. <https://doi.org/10.1002/vms3.783>
- Wang, J., X. Wang, WeiminWang, F. Li, D. Zhang, X. Li, Y. Zhanga, ..., X. Zhanga. 2022a. Molecular characterization and expression of RPS23 and HPSE and their association with hematologic parameters in sheep. *Gene* 837: 146654. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2022.146654>
- Wang, J.J., Z.D. Li, L.Q. Zheng, T. Zhang, W. Shen, C.Z. Lei. 2022. Genome-wide detection of selective signals for fecundity traits in goats (*Capra hircus*). *Gene* 15(818): 146221. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2022.146221>.

- Wang, S., J. Liu, W. Zhao, G. Wang, S. Gao. 2021. Selection of candidate genes for differences in fat metabolism between cattle subcutaneous and perirenal adipose tissue based on RNA-seq. *Animal Biotechnology* 1-12. <https://doi.org/10.1080/10495398.2021.1991937>
- Weldenegodguad, M., K. Pokharel, L. Niiranen, P. Soppela, I. Ammosov, M. Honkatukia, ..., J. Kantanen. 2021. Adipose gene expression profiles reveal insights into the adaptation of northern Eurasian semi-domestic reindeer (*Rangifer tarandus*). *Communications Biology* 4. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-02703-z>
- Xu, S.-S., Gao, L., Xie, X.-L., Ren, Y.-L., Shen, Z.-Q., Wang, F., ..., Li, M.-H. (2018). Genome-Wide Association Analyses Highlight the Potential for Different Genetic Mechanisms for Litter Size Among Sheep Breeds. *Frontiers in Genetics*, 9. <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00118>
- Yurchenko, A. A., T.E. Deniskova, N.S. Yudin, A.V. Dotsev, T.N. Khamiruev, M.I. Selionova, ..., D.M. Larkin. 2019. High-density genotyping reveals signatures of selection related to acclimation and economically important traits in 15 local sheep breeds from Russia. *BMC Genomics* 20: 294. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-5537-0>
- Zepeda-Batista, J.L., R. Núñez-Domínguez, R. Ramírez-Valverde, F.J. Jahuey-Martínez, J.B. Herrera-Ojeda, G.M. Parra-Bracamonte. 2021. Discovering of Genomic Variations Associated to Growth Traits by GWAS in Braunvieh Cattle. *Genes* 12(11):1666. <https://doi.org/10.3390/genes12111666>