



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRIA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

NEUROGENÉTICA Y GENÓMICA

“ESTUDIO Y ANÁLISIS GENÉTICO DEL COMPORTAMIENTO
MATERNO EN *OVIS ARIES*”

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN
Y DE LA SALUD ANIMAL

PRESENTA

MVZ. BENEDICT AARÓN LÓPEZ IGLESIAS

TUTOR PRINCIPAL

DR. RAÚL ULLOA ARVIZU, FMVZ-UNAM

COMITÉ TUTORAL

DR. RUBÉN DARÍO MARTÍNEZ ROJERO, CSAEGRO
DR. FRANCISCO AURELIO GALINDO MALDONADO, FMVZ-
UNAM

C.D UNIVERSITARIA CDMX

MAYO 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

Los resultados de este estudio son parte del Proyecto No. 176388 Convocatoria CB-2012-01, Fondo Sectorial para la Educación SEP-CONACYT titulado “Caracterización Morfo-estructural, Reproductiva y Genética del Borrego de Cuatro Cuernos de la montaña de Guerrero”.

A mi tutor principal y a mi comité tutorial por su apoyo en la dirección, la guía y la ayuda para el desarrollo de esta investigación.

Agradezco el apoyo y guía del MC Juan Carlos Fernández López miembro del Consorcio de Genómica Computacional de Genómica Computacional INMEGEN.

Al Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN) en particular al Consorcio de Genómica Computacional por apoyarme tanto en mi formación profesional.

Al Departamento de Genética y Bioestadística de la FMVZ UNAM, en particular al jefe del departamento Dr Carlos Gustavo Vásquez Peláez, por brindarnos siempre un espacio para poder realizar las labores de investigación.

Agradezco al Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Ovina CEIEPO, Huitzilac, Tres Marías, Morelos, por todo el increíble apoyo brindado para realizar esta investigación.

Al Dr José de Jesús Núñez Saavedra director del CEIEPO por facilitarnos todos los trámites y servicios para realizar esta investigación.

Al Dr Cervantes Morali Julio Cesar encargado del área de Medicina Ovina del CEIEPO por su apoyo y guía durante el desarrollo de esta investigación, así como su amistad y disposición para realizar este proyecto.

CONTENIDO

Páginas

<i>i.</i> RESUMEN -----	8
<i>ii.</i> ABSTRACT -----	9
1. INTRODUCCIÓN-----	10
1.1 REVISIÓN DE LITERATURA-----	11
1.1.2 LA CONDUCTA MATERNA-----	11
1.1.3 REGULACIÓN DE LA CONDUCTA MATERNA-----	11
1.1.4 CONDUCTA MATERNA EN OVINOS -----	12
1.1.4 ORIGEN DE LAS RAZAS OVINAS SUFFOLK Y DORSET-----	13
1.1.5 OVINOS OBISPO -----	14
1.1.6 NEUROGENÉTICA -----	14
1.1.7 MÉTODOS DE GENOTIPIFICACIÓN -----	16
1.1.8 ESTUDIOS DE ASOCIACIÓN DE GENOMA COMPLETO -----	17
1.1.9 HAPLOTIPOS Y MINERÍA DE DATOS -----	19
2. HIPÓTESIS -----	21
3. OBJETIVOS -----	22
4. MATERIAL Y MÉTODOS	
4.1 ANIMALES EN ESTUDIO -----	23
4.2 ANÁLISIS CONDUCTUAL -----	23
4.3 ANÁLISIS EXPLORATORIO DE EVENTOS CONDUCTUALES -----	26
4.4 DISTRIBUCIÓN, REDUCCIÓN Y CORRELACIÓN DE LAS PAUTAS DE CONDUCTA -----	27
4.5 PURIFICACIÓN O EXTRACCIÓN DE ADN TOTAL -----	27
4.6 ANÁLISIS GENÓMICO Y BIOINFORMÁTICO -----	28
4.7 ESTUDIO DE ASOCIACIÓN GENÓMICA (GWAS) -----	28
4.8 ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES -----	29
4.9 GRÁFICAS DE MANHATTAN -----	30
4.10 MINERÍA DE DATOS -----	30
4.11 ANÁLISIS DE HAPLOTIPOS USANDO SNP -----	30

5. RESULTADOS	
5.1 RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE COMPORTAMIENTO-----	31
5.1.1 Prueba de Normalidad -----	31
5.1.2 Análisis exploratorio de las pautas de comportamiento -----	31
5.1.3 Análisis de componentes principales -----	34
5.2 RESULTADOS DEL ANÁLISIS GENÓMICO	
5.2.1 Distancia genética -----	35
5.2.2 Resultados del GWAS -----	36
5.2.3 Resultados de Haplotipos-----	38
5.2.4 Función de los Genes localizados	
5.2.4.1 Gen <i>ZEB2</i> -----	44
5.2.4.2 Gen <i>SH3GL2</i> -----	45
5.2.4.3 Gen <i>YWHAQ</i> -----	45
5.2.4.4 Gen <i>GUK1</i> -----	46
5.2.4.5 Gen <i>C15orf62</i> -----	46
5.2.4.6 Gen <i>TG</i> -----	47
5.2.4.7 Gen <i>PSCR1</i> -----	48
5.2.4.8 Gen <i>RHO</i> -----	49
5.2.4.9 Gen <i>MC4R</i> -----	49
6. DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN-----	51
7. REFERENCIAS-----	56
8. ABREVIATURAS -----	65
9. ANEXOS	
9.1 Anexo 1 Plantillas de las hojas de registro del análisis de las pautas de conducta.-----	66
9.2 Anexo 2 Cuadro de los Marcadores tipo SNP que presentaron asociación significativa ajustada por el test de múltiples pruebas. -----	67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Gráficas de cajas de las pautas de conducta: Abandono de la Cría (ABNO) y Convivencia con la cria (TC), mostrando diferencias por raza.-----	31
Figura 2. Gráficas de cajas de las pautas de conducta: Acicalamiento a la cría (ACC), Olfateo a la Cria (OFC), Acicalamiento con el medio (ACMEDIO) y Mordisco a la Cría (MORC), mostrando la diferencia por raza-----	32
Figura 3. Análisis de Componentes Principales (PCA) empleando las pautas de comportamiento-----	34
Figura 4. Análisis de Componentes Principales usando el eigenvector 1 y 2-----	35
Figura 5. Grafica de las clasificaciones del Componente principal 1 y el 3 utilizando los datos genómicos-----	35
Figura 6. Manhattan plot con todos los marcadores resultantes de la Asociación del Genoma Completo-----	36
Figura 7. Haploview plot donde se muestra el comparativo por raza del marcador OAR2_89841590.1, mostrando que no existe una correlación con todos los marcadores presentes en el gen SH3GL2-----	39
Figura 8. Haploview plot donde se muestra el comparativo por raza del marcador OAR3_182984169.1, mostrando que no existe una correlación con todos los marcadores presentes en el gen YWHAQ.-----	40
Figura 9. Haploview plot donde se muestra el comparativo por raza del marcador OAR7_31172405.1, mostrando que no existe una correlación con todos los marcadores presentes en el gen C15orf62.-----	41
Figura 10. Haploview plot donde se muestra el comparativo por raza del marcador OAR9_21225274.1, mostrando que no existe una correlación con todos los marcadores presentes en el gen TG.-----	41
Figura 11. Haploview plot donde se muestra el comparativo por raza del marcador OAR10_23753028.1, mostrando que no existe una correlación con todos los marcadores presentes en el gen PSRC1-----	42

Figura 12. Haploview plot donde se muestra el comparativo por raza del marcador OARX_35237878.1, mostrando que no existe una correlación con todos los marcadores presentes en el gen RHO-----	43
Figura 13. Haploview plot donde se muestra el comparativo por raza del marcador OAR23_59102681.1, mostrando que no existe una correlación con todos los marcadores presentes en el gen MC4R-----	43
Figura 14. Estructura de la proteína codificada por el gen ZEB2-----	44
Figura 15. Estructura de la proteína codificada por el gen SH3GL2-----	45
Figura 16. Estructura de la proteína codificada por el gen YWHAQ-----	46
Figura 17. Red de interacción del gen GUK1-----	46
Figura 18. Localización genética del gen C15orf62-----	47
Figura 19. Estructura de la Tiroglobulina codificada por el Gen TG-----	48
Figura 20. Red de interacción del gen PSCR1-----	48
Figura 21. Red de interacción del gen RHO-----	49
Figura 22. Estructura de la proteína del receptor de melanocortina 4 codificada por el gen MC4R-----	50

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Calendario de observación de los estados y eventos conductuales-----	24
Cuadro 2. Diferencia entre pautas de conducta (P.C), evaluando la media de cada una de ellas y el error por raza-----	33
Cuadro 3. Marcadores genéticos localizados en el Estudio de Asociación de Genoma Completo (GWAS): Suffolk (S), Dorset (D). -----	37
Cuadro 4. Marcadores genéticos localizados en el Estudio de Asociación de Genoma Completo (GWAS): Obispo (Cr), Dorset (D). -----	37
Cuadro 5. Marcador genético OAR2_162810404.1 que pertenece al gen ZEB2-----	38
Cuadro 6. Marcador genético OAR2_89841590.1 que pertenece al gen SH3GL2-----	38
Cuadro 7. Marcador genético OAR3_182984169.1 que pertenece al gen YWHAQ -----	39
Cuadro 8. Marcador genético s26518.1 que pertenece al gen GUK1-----	40
Cuadro 9. Marcador genético OAR7_31172405.1 que pertenece al gen C15orf62-----	40
Cuadro 10. Marcador genético OAR9_21225274.1 que pertenece al gen TG-----	41
Cuadro 12. Marcador genético OAR10_23753028.1 que pertenece al gen PSRC1-----	42
Cuadro 13. Marcador genético OARX_35237878.1 que pertenece al gen RHO-----	42
Cuadro 14. Marcador genético OAR23_59102681.1 que pertenece al gen MC4R-----	43

***i*. RESUMEN**

LOPEZ IGLESIAS BENEDICT AARON. Estudio y Análisis genético del comportamiento materno en *Ovis aries* (bajo la dirección del Dr. Raúl Ulloa Arvizu y el comité tutorial conformado por los académicos Dr. Rubén Darío Martínez Rojero, Dr. Francisco Aurelio Galindo Maldonado).

La conducta materna consiste en la expresión de una serie de patrones motores desplegados al final de la gestación, durante y después del parto con el objetivo de atender las necesidades de la progenie y favorecer por lo tanto su sobrevivencia. En los ovinos hasta el momento no se tienen suficientes datos en la literatura científica, sobre las bases genéticas de la conducta. El objetivo de este trabajo fue realizar un estudio de Asociación de Genoma Completo evaluando conducta materna en ovinos Dorset, Suffolk y Obispo empleando polimorfismos de un solo nucleótido (SNP). Las diferencias conductuales de las razas Suffolk, Dorset y Obispo se evaluaron con herramientas etológicas, lo que permitió seleccionar a las hembras de mayor y menor actividad de protección materna. La genotipificación se hizo empleando el Microarreglo OvinoSNP50 de la compañía Illumina®. Para la asociación se usó el programa PLINK 1.07 implementando un estudio de casos y controles utilizando la prueba estadística de X^2 cuyos valores de P se ajustaron por Test de Bonferroni (prueba de comparaciones múltiples) considerando un valor de significancia *p-value* 0.005. Se realizó un análisis de componentes principales PCA usando el programa EIGENSOFT para ver la distancia genética entre las razas. En este estudio se localizaron los marcadores OAR2_162810404.1, OAR7_31172405.1, que se encuentran involucrados en la regulación neuroendocrina y desarrollo del tálamo en ovinos, se localizó también el marcador OAR23_59102681.1, que está asociado a la conducta materna en ovinos. Adicionalmente se identificaron nuevos marcadores genéticos(OAR9_21225274.1,OAR10_23753028.1,OARX_35237878.1,OAR2_89841590.1, OAR3_182984169.1, s26518.1). Estudios de genómica ovina describen que estos marcadores están localizados en genes con implicación directa con el desarrollo de tejidos de la cresta neural y en actividad neurofisiológica. Los marcadores encontrados en este estudio están involucrados de manera directa con la conducta materna en ovinos.

***ii.* ABSTRACT**

The maternal behavior consists of the expression of a series of motor patterns deployed at the end of pregnancy, during and after delivery in order to meet the needs of the progeny and thus favor their survival. In sheep so far there is not enough data reported in the scientific literature on the genetic basis of behavior. The objective of this work was to carry out a full Genome Association study evaluating maternal behavior in Dorset, Suffolk and Bishop ovines using single nucleotide polymorphisms (SNPs). The behavioral differences of the Suffolk, Dorset and Bishop breeds were evaluated with ethological tools, which allowed selecting the females with the highest and lowest maternal protection activity. Genotyping was done using the OvineSNP50 Microarray from the company Illumina®. For the association, the PLINK 1.07 program was used, implementing a case-control study using the X² statistical test whose P values were adjusted by the Bonferroni test (multiple comparisons test) considering a p-value value of 0.005. A PCA main components analysis was performed using the EIGENSOFT program to see the genetic distance between the races. In this study the markers OAR2_162810404.1, OAR7_31172405.1, which are involved in the neuroendocrine regulation and development of the thalamus in sheep were located, the marker OAR23_59102681.1, which is associated with maternal behavior in sheep, was also located. Additionally, new genetic markers were identified (OAR9_21225274.1, OAR10_23753028.1, OARX_35237878.1, OAR2_89841590.1, OAR3_182984169.1, s26518.1). Studies of ovine genomics describe that these markers are located in genes with direct involvement with the development of tissues of the neural crest and in neurophysiological activity. The markers found in this study are directly involved with maternal behavior in sheep.

1. INTRODUCCIÓN

A principios de 1990, un conjunto de nuevas técnicas para manipular el ADN del ratón 'knock out' permitió a los investigadores comprender genes específicos, estudiar y observar los efectos de la eliminación de ellos en un ratón vivo, lo que comenzó a revolucionar el estudio del comportamiento (Nelson, 2015). En genética de la conducta de los animales, las preguntas acerca de cómo implementar estas técnicas para el estudio de las bases moleculares de la conducta se hicieron bastante controvertidas, con una serie de cuestiones metodológicas. Los debates que tuvieron lugar durante la década de 1990 entre un grupo predominantemente norteamericano de biólogos moleculares y conductistas de animales en torno a cómo diseñar, conducir e interpretar experimentos de comportamiento (Yela, 1996). Por ejemplo los diferentes supuestos sobre la naturaleza de la acción de genes. Así como implementar controles experimentales, fueron atados a diferentes posiciones en los debates, realizándose así un debate interesante y revolucionario (Nelson, 2015). El instinto puede ser llamado una asociación fija de ideas o sus equivalentes cerebrales; La razón, reside en el grado de rigidez de los patrones de comportamiento. La diferencia fundamental entre el instinto y otro comportamiento, hasta donde se sabe, es que los patrones instintivos tienden a ser fijos e inflexibles a diferencia de la razón. Actualmente se sabe que el "instinto" depende de factores externos e internos. Externos: "estímulos" y "estímulos signo", a internos: hormonas, "estímulos sensoriales internos" e "impulsos nerviosos intrínsecos" (Yela, 1996). Son componentes de la conducta instintiva: la conducta apetitiva, el acto consumatorio, conducta sexual, respuesta motora al estrés y la conducta materna. Estos sistemas motivacionales tiene a su vez las dos fases: apetitividad y consumación (Numan *et al.*, 2006). Se puede teorizar que la explicación del instinto en variantes biológicas, no es más que el resultado de la expresión genética y la conjugación de caracteres hereditarios en interacción con el medio ambiente. En los ovinos Dorset, Suffolk y Obispo hasta el momento no se tiene suficiente información en la literatura científica sobre las bases genéticas de la conducta. En este sentido, es importante hacer estudios más a fondo de Neurogenética para identificar la base genética de la conducta materna en ovinos.

1.1 REVISIÓN DE LITERATURA

1.1.1 LA CONDUCTA MATERNA

La conducta materna consiste en la expresión de una serie de patrones motores desplegados al final de la gestación, durante y después del parto, que proveen de alimentación, calor, protección, estímulos sensoriales y sociales necesarios para el desarrollo de la progenie. Aunque la conducta materna se inicia poco antes del parto con la construcción del nido, en especies atriciales (tales como los roedores y los lagomorfos) no es sino hasta el nacimiento de sus crías cuando la hembra manifiesta un súbito y singular cambio en su responsividad materna (Poindron *et al.*, 1988). Por ejemplo, la rata acarrea a las crías al nido, si se salen de este, les lame el cuerpo y el área anogenital y adopta la postura de amamantamiento (dorsoflexión) sobre ellas para amamantarlas. Este incremento en la responsividad hacia las crías depende de la acción de una secuencia de cambios hormonales que ocurren al final de la gestación. En el caso de la oveja el cambio de la conducta se evidencia por un descenso en la conducta gregaria y la atracción al líquido amniótico. (Numan *et al.*, 2006)

1.1.2 REGULACIÓN DE LA CONDUCTA MATERNA

La responsividad de una hembra hacia crías recién nacidas depende de su estado reproductivo. Así, hembras no gestantes muestran aversión o miedo hacia crías “extrañas” (provenientes de madres nodrizas), en cambio, hembras lactantes muestran atracción. Interesantemente, si hembras no gestantes se exponen continuamente hacia crías “extrañas”, la aversión disminuye progresivamente y empiezan a sentirse atraídas hacia las crías hasta que empiezan a desplegar la conducta maternal (sensibilización: proceso utilizado para inducir conducta maternal) (Prato *et al.*, 2003)

En 1974, Fleming y Rosenblatt (citado por Prato *et al.*, 2003) propusieron que la aversión/atraccción hacia las crías dependía del sistema olfatorio, principal y

accesorio. Ellos demostraron que la anosmia total causada por la remoción de los bulbos olfatorios, o periférica por la aplicación de sulfato de zinc al epitelio olfatorio, reducía en las madres la percepción de olores y disminuía el tiempo dedicado al lamido de las crías. Sin embargo, si esta sustancia se aplicaba a hembras vírgenes, quienes normalmente no son maternas, la responsividad hacia las crías se facilitaba. Es decir, cuando ellas eran expuestas hacia crías “extrañas” durante varios días (sensibilización), la latencia para proveer cuidados maternos se reducía notablemente. Estos datos apoyaron fuertemente la participación del sistema olfatorio en la regulación de la conducta maternal y sugirieron que, al parto, la madre sufre una considerable reducción del miedo hacia ambientes estresantes y hacia las crías, además de un incremento en la atracción hacia olores y estímulos auditivos relacionados a las crías (Prato *et al.*, 2003). Especialmente en Ovinos es la única especie doméstica en la cual se ha descrito el control fisiológico y neurobiológico de la conducta materna (Poindron, P & Le Neindre, P, 1980).

1.1.3 CONDUCTA MATERNA EN OVINOS

Las especies precoces como los ungulados tienen crías bien desarrolladas desde el punto de vista motriz y sensorial, con alta autonomía térmica. Las crías de estas especies son capaces de levantarse rápido y seguir a su madre después de nacidas, lo cual está asociado con un proceso de reconocimiento rápido entre ambos a través de diferentes vías sensoriales. (Terrazas *et al.*, 1999) En el ovino, la madre aprende a reconocer a la cría por su olor dentro de las primeras dos a cuatro horas posteriores al nacimiento, lo que resulta en el cuidado y amamantamiento exclusivo de su cría. Una vez establecido este vínculo selectivo la madre rechaza, e incluso muestra conductas agresivas, hacia cualquier cría ajena que intente amamantarse. (Ferreira *et al.*, 2000). La interacción madre–cría favorece el aprendizaje del olor del cordero. En la oveja, el reconocimiento a distancia interviene el oído y la vista, aunque la participación de estos sentidos parece necesitar más tiempo. Los corderos también son capaces de mostrar preferencias hacia su madre desde las 12 horas de edad, aun cuando en algunos momentos intenten amamantarse de otras ovejas (Nowak *et al.*, 1987). Dicha preferencia depende de la capacidad de discriminación por parte de

la cría entre un conjunto de señales de aceptación (mostradas por la madre propia) y señales de rechazo (mostradas por la madre ajena) La capacidad de reconocimiento del cordero se considera completa a las 48 horas después del nacimiento, cuando ya cuentan con la habilidad de discriminación de los rasgos individuales de su madre desde una distancia de varios metros (Terrazas *et al.*,2002).El ovino tiene la característica de adopción de corderos ajenos gracias su flexibilidad conductual, sin embargo tiene prioridad por sus crías, se ha visto que identifica la diferencia entre la cría adoptada y la propia, sin perder atención en ambas (Poindron, 2001). Recientes investigaciones han mostrado que ciertas razas de ovinos tienen una mayor actividad en la conducta materna como son la raza Dorset, contrario a las razas Suffolk y Katadhin presentan una conducta materna en menor actividad (Dwyer *et al.*, 2000). Hasta el momento se conocen mecanismos etológicos, fisiológicos y productivos muy precisos sobre la conducta materna (Shillito-Walser *et al.*,1980) (Dwyer, 2008). Sin embargo aún no se conocen todos los genes que regulan la actividad materna en particular.

1.1.4 ORIGEN DE LAS RAZAS OVINAS SUFFOLK Y DORSET

Se sabe que las ovejas domesticas se originaron en Asia, a partir del resultado de influencias de múltiples y sucesivas invasiones a lo largo de la historia, lo que permitió que las ovejas se propagaran en Europa y se cree que así llegaron también a la Península Ibérica. (Pedrosa *et al.*, 2007). Se sabe que las ovejas de la raza Suffolk fueron desarrolladas en Inglaterra como resultado del cruzamiento de machos Southdown con hembras Norfolk Horned. El producto de este cruzamiento fue un mejoramiento de las razas de los parientes. En el caso característico de la raza Dorset a ciencia cierta no se sabe su origen. Se Teoriza que probablemente en la época en que España intento conquistar Inglaterra, es posible que la raza Merino en la parte suroeste de Inglaterra, se cruzó con la raza encornada de Gales. Este cruzamiento produjo una oveja deseable de doble rendimiento que logro satisfacer las necesidades de aquella época y así empezó una raza que se popularizo en los condados de Dorset, Somerset, Devon y la mayor parte de Gales (UNO, 2019).

1.1.5 OVINOS OBISPO

En la región de la Montaña del estado de Guerrero aún se encuentran en varios municipios indígenas, pequeños rebaños de ovinos Criollos lanados, principalmente de color negro y blanco; cuyos machos generalmente presentan policerismo (más de dos cuernos) y son conocidos como borregos “Obispo”, “Diablo” o de “Cuatro Cuernos”. Estos ovinos prácticamente se han mantenido aislados desde que fueron introducidos por los españoles durante la conquista, sin mezclarse con otras razas que llegaron posteriormente. No sería remoto, por tanto, que ante la falta de estudios serios, consistentes y sistemáticos para caracterizarlo, en cierto momento este genotipo pudiera desaparecer. (Martínez-Rojero *et al.*, 2017)

Estudios en Ulloa *et al.*, 2009 encontraron que las razas criollas locales mexicanas (Criollas, borrego Chiapas y Pelibuey) presentan haplotipo B presente en los trabajos de Pedrosa *et al.*, 2007, que los ubica con un origen europeo. Sin embargo hasta la fecha no se tienen datos en la literatura científica sobre su ancestría usando datos de genoma completo. Por lo que es de suma importancia caracterizar los diversos parámetros fisiológicos y etológicos para resaltar la importancia biológica de la raza Obispo.

1.1.6 NEUROGENÉTICA

En medicina de seres humanos la Neurogenética explora las enfermedades neurológicas hereditarias y los aspectos fisiológicos en la neurobiología. Su avance está en paralelo al impacto de la biología molecular en medicina, se llevan de la mano desde la investigación de ciencia básica, hasta los grandes cambios en el diagnóstico neurológico cada vez más preciso, a la fisiología neurobiológica, a los nuevos tratamientos basados en el mejor conocimiento de la fisiopatología y especialmente al mejor análisis de los riesgos para los otros miembros de la familia. Además, se sabe que el componente genético influye en las patologías no hereditarias del sistema nervioso en humanos. La susceptibilidad genética es transversal a todas las enfermedades neurológicas que se basan en el conocimiento

de la epidemiología genética, a la fecha en humanos y animales se tienen aún pocos productos y mucho por conocer referente a la Neurogenética (Parker *et al.*, 2010).

En el cerebro humano y animal no han sido completamente caracterizados, pero su abundancia en los tejidos y la conversión eficiente en las membranas celulares sugieren que tienen un papel clave en la homeostasis celular y en el crecimiento, incluyendo otras funciones como en la proliferación de los progenitores neurales (Perrin *et al.*, 2007) y en la elongación de las neuritas, así como en las bases biológicas de la conducta (Keller *et al.*, 2005), por lo que es importante hacer estudios más a fondo de Neurogenética animal y humana (Klinedinst *et al.*, 2015).

Recientes estudios en cánidos han logrado un progreso considerable en la comprensión de la base genética de los rasgos morfológicos (el tamaño del cuerpo y el color del pelaje) en perros y lobos, la base genética de su divergencia conductual es poco conocida. Algunos hallazgos proporcionan una idea de un mecanismo genético por el cual la respuesta hipersocial de perros, comparado con lobos criados por humanos y los propios humanos, pueden actuar y estar conformados por selección durante la domesticación de especies (vonHoldt *et al.*, 2017).

Este mecanismo se espera que predisponga a los perros a respuestas hipersociales hacia cualquier compañero en condiciones de servidumbre. Esto es consistente con el hallazgo de que los perros parecen mantener, o incluso aumentar, la duración de la vida social con humanos y congéneres a medida que se acercan a la edad adulta, con la tendencia opuesta encontrada en los lobos, esto se logró mediante la asociación de caracteres cuantitativos y genéticos en estudios en la genética de los perros domésticos, lobos y humanos (Zapata *et al.*, 2016). Se requiere un enfoque integrador que utilice datos conductuales y genéticos para comprender los fundamentos de las diversas características de comportamiento asociadas con la domesticación (vonHoldt *et al.*, 2017).

1.1.7 MÉTODOS DE GENOTIPIFICACIÓN

El análisis de polimorfismos de nucleótido simple (en inglés SNP, single nucleotide polymorphisms y de aquí en adelante denominados SNP) se basa en el uso de cebadores específicos que terminen justo antes de la base a determinar. La detección de la base incorporada revela la presencia/ausencia del polimorfismo. Estos polimorfismos representan los marcadores genéticos más ampliamente distribuidos en el genoma de los organismos (Kubinyi *et al.*, 2012). Actualmente en animales domésticos y silvestres se han descrito más de 10 millones de SNP, aunque se ha estimado que existen aproximadamente 20 millones de ellos alcanzando una distribución de aproximadamente un SNP por cada 100-300 nucleótidos para las diferentes especies animales. De acuerdo con su importancia funcional y su amplia localización, ya sea en la estructura del gen o del ARNm de los genes que sintetizan proteínas, los SNP funcionales se han dividido en rSNP, srSNP y SNP codificantes (cSNP). Cada uno de ellos puede afectar, en último término, a la cantidad y actividad de las proteínas codificadas en los respectivos genes de las diferentes especies de animales (Ramírez *et al.*, 2013).

Los recientes avances en la identificación de genes han ayudado a comprender mejor, a nivel molecular, genético y fisiológico, los fenómenos implicados en el desarrollo de varios aspectos biológicos, lo que implica que usarlos permite identificar genotipos de interés biomédico (Ramírez *et al.*, 2013).

Un microarreglo de ADN (DNA microarray) es una superficie sólida a la cual se une una colección de fragmentos de ADN. Las superficies empleadas para fijar el ADN son muy variables y pueden ser de vidrio, plástico e incluso de silicona. Los microarreglos de ADN se usan para analizar regiones tanto intrónicas como exónicas y se monitorean de manera simultánea los niveles de miles de ellos. Su funcionamiento consiste, básicamente, en medir el nivel de hibridación entre la sonda específica y la molécula diana (target), se indican generalmente mediante fluorescencia y a través de un análisis de imagen, lo cual indica el nivel de expresión del gen (Dehghan, 2018)

Los microarreglos de ADN pueden utilizarse para "leer" las secuencias de un genoma particular en determinadas posiciones mediante arreglos de SNP. Los microarreglos de SNP son un tipo particular de matrices que se utilizan para identificar variaciones individuales y a través de poblaciones. Los oligonucleótidos pequeños son capaces de identificar polimorfismos de un sólo nucleótido que podrían ser los responsables de variaciones genéticas dentro de una población, la fuente de susceptibilidad a distintas enfermedades genéticas e incluso a ciertos tipos de cáncer. En general, la aplicación de estas técnicas de genotipado se usan en medicina humana, ya que son rápidas en descubrir o medir la predisposición de enfermedades o incluso permitir el uso de ciertos medicamentos para tratar ciertas enfermedades según sea el ADN del enfermo o donante (Manolio, 2010).

1.1.8 ESTUDIOS DE ASOCIACIÓN DE GENOMA COMPLETO (GWAS: Genome-wide association study)

Los Estudios de Asociación de Genoma Completo, también conocidos como GWAS por sus siglas en inglés, han revolucionado la investigación genómica en los últimos catorce años. Este abordaje ha sido posible en buena medida gracias a los microarreglos, los cuales han facilitado la caracterización sistemática de una gran proporción de la variabilidad genética en estudios de casos y controles, estudios de cohorte y ensayos clínicos. Los estudios de GWAS buscan establecer la relación estadística entre variables genéticas poblacionales y un fenotipo determinado (ejemplo: rasgo, riesgo de enfermedad, entre otros) (Dehghan, 2018).

El diseño al que se ha acudido mayoritariamente es el de casos y controles, el cual de manera muy general consiste en comparar la frecuencia de los factores estudiados (en este caso variantes genéticas) en un grupo de individuos afectados (ej. obesos) y un grupo de individuos no afectados (ej. delgados), para determinar si existe una diferencia significativa en la frecuencia de una o más de estas variantes entre ambos grupos. Este abordaje posee fortalezas y limitaciones, que se han identificado y han sido evaluadas por diferentes grupos en el mundo (McCarthy *et al.*,

2008). Una de sus principales fortalezas es que por su diseño libre de hipótesis, permite identificar regiones genéticas, que nunca se habrían sospechado como relevantes para las enfermedades estudiadas, y que por lo tanto probablemente no habrían sido incluidos en estudios basados en regiones específicas o genes candidatos. Por otro lado, una limitación importante es la presencia de un número considerable de falsos positivos por efecto del análisis simultáneo de múltiples pruebas estadísticas (al menos una por SNP), así como las diferencias en frecuencias alélicas ocasionadas por diferencias en orígenes ancestrales o diferencias demográficas (estratificación poblacional) y no relacionadas al fenotipo en estudio (Dehghan, 2018).

Habitualmente, se utilizan como marcadores genéticos a los SNP. Estas variaciones pueden ser en sí mismas funcionales y estar relacionadas a la fisiopatología de la enfermedad, pero en la mayoría de los casos, son utilizadas para el mapeo y ubicación de los verdaderos sitios relevantes. Los dos acercamientos posibles son el del "gen candidato" cuando existe evidencia previa de funcionalidad de la variante, o el de la "asociación indirecta" (Ioannidis *et al.*, 2009).

Actualmente en animales, la técnica de asociación genómica está siendo utilizada para la realización de una proyección del genoma completo con el fin de establecer posibles sitios de asociación (Manolio, 2010). Existen factores críticos en el diseño y análisis de GWAS, entre los que destacan tres: a) la selección cuidadosa de casos y controles para minimizar potenciales sesgos (ej. edad, sexo, origen ancestral, etc.), b) la selección de los marcadores a caracterizar o genotipificar (ej. SNP etiqueta, SNP codificantes, etc.), y c) el control de calidad de los datos (McCarthy *et al.*, 2008). Para descartar efectos de estructura genética y/o de factores ambientales, es necesario validar las señales de asociación genética mediante su replicación con un alto nivel de certidumbre estadística ($P < 5 \times 10^{-01}$) en un número de individuos más grande al grupo en donde se identificó, y/o en diferentes poblaciones (McCarthy *et al.*, 2008).

Para identificar las variantes genéticas verdaderamente causales del efecto biológico relacionado al fenotipo, normalmente se recurre a estrategias de mapeo fino y/o re-secuenciación de las regiones identificadas en los GWAS. El mapeo fino consiste en analizar las regiones candidato identificadas en los GWAS utilizando mayor densidad de marcadores, en tanto que la resecuenciación se basa en analizar una a una cada base contenida en esas regiones. Por ejemplo en humanos de acuerdo al “The NHGRI-EBI Catalog of published genome-wide association studies”. European Molecular Biology Laboratory 2018”, a la fecha se han publicado más de 3000 GWAS, en los que han sido identificadas aproximadamente 1800 asociaciones significativas ($p < 5 \times 10^{-8}$) entre SNP y, rasgos y/o patologías complejas a todo lo largo del genoma (Katta *et al.*, 2009). Estos resultados han sido importantes para el estudio de varias enfermedades, aunque con distinto grado de relevancia, ej. En la degeneración macular relacionada a la edad, una enfermedad degenerativa que resulta en ceguera parcial o total en adultos mayores. Se han identificado cinco SNP que explican más del 50% del riesgo genético en familiares de individuos afectados (Dehghan, 2018).

Estos estudios se articulan en forma horizontal con estudios de modelos genómicos animales (como ratones). Las posiciones posiblemente relacionadas pueden describirse inicialmente en estudios de mapeo genético en ratones u otras especies y luego ser explorados a través de estudios de asociación en humanos (Feero *et al.*, 2010).

1.1.9 HAPLOTIPOS Y MINERÍA DE DATOS

En las ciencias genómicas un haplotipo es un conjunto de polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) en un cromosoma particular. Los estudios en general han dado cuenta que los SNP se heredan en grupos que se encuentran estrechamente relacionados en el ADN, en contraste con la tesis sostenida hasta el momento, en la que se planteaba la segregación al azar debido a la recombinación genética. Es por esto que el estudio de haplotipos se ha convertido en una herramienta útil en la

determinación de relación génica entre individuos, y por lo tanto en el estudio del origen de mutaciones causantes de diversos padecimientos (Barrett *et al.*, 2005).

La minería de datos o exploración de datos (es la etapa de análisis de "Knowledge Discovery in Databases" o KDD) es un campo de la estadística y las ciencias de la computación referido al proceso que intenta descubrir patrones en grandes volúmenes de conjuntos de datos. Utiliza los métodos de la inteligencia artificial, aprendizaje automático, estadística y sistemas de bases de datos genómicos. El objetivo general del proceso de minería de datos consiste en extraer información de un conjunto de datos y transformarla en una estructura comprensible para su uso posterior. Además de la etapa de análisis en bruto, supone aspectos de gestión de datos y de bases de datos, de procesamiento de datos, del modelo y de las consideraciones de inferencia, de métricas de intereses, de consideraciones de la teoría de la complejidad computacional, de post-procesamiento de las estructuras descubiertas, de la visualización y de la actualización en línea. En genómica nos ayuda a localizar genes directamente relacionados con el rasgo que se estudió el problema, una de las virtudes es que ocupa la relación de las bases de datos genómicos en la red, ayudando a la localización de genes y SNP en un cierto locus asociado a un rasgo o enfermedad (Febles *et al.*, 2002).

2. HIPÓTESIS

Existen variantes genéticas que regulan las respuestas conductuales maternas en ovinos de la raza Dorset, Suffolk y Obispo.

3. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Realizar un estudio de Asociación de Genoma Completo evaluando conducta materna en ovinos Dorset, Suffolk y Obispo empleando polimorfismos de un solo nucleótido (SNP)

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Evaluar la conducta materna de las razas Suffolk, Dorset, Obispo empleando Herramientas Etológicas.

Identificar SNP asociados con la conducta materna en borregas de las razas Suffolk, Dorset y Obispo

Realizar el análisis de haplotipos y la minería de datos con base en los resultados de la asociación para localizar los genes relacionados con la actividad materna.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 ANIMALES EN ESTUDIO

Se usaron 15 ovinos hembras de la raza Criollos Obispo de segundo parto de una sola cría, traídas de la Región de la Montaña de Guerrero a la granja del Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero (CSAEGRO) en proceso de lactación al momento de esta investigación, Se seleccionaron también 7 ovinos hembras de la raza Dorset y 7 ovinos hembras de la raza Suffolk de segundo parto de una sola cría respetivamente, que se encontraban en proceso de lactación al momento de la presente investigación, procedentes del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Ovina (CEIEPO) Tres Marías, Edo. De Morelos.

4.2 ANÁLISIS CONDUCTUAL

El registro de pautas de conducta se realizó basándose en la metodología con modificaciones propuesta por Ramírez *et al.*, (2011) y Siegel *et al.*, (1988) que consiste en realizar observaciones durante una hora continua (11am-12md), 5 días consecutivos (lunes – viernes), durante el periodo de lactación a partir del primer día del segundo mes en cada grupo y sin alterar las condiciones de convivencia madre/cría. Esto condujo a que a cada grupo se le observo durante un total de 5 horas.

El calendario de observación (Cuadro.1) se llevó a cabo de lunes a viernes durante 5 semanas, en 5 corrales en los que estaban distribuidas las hembras y sus crías, iniciando con la observación del grupo 1 (G1) que corresponde al número del primer corral y finalizando con la observación del grupo 5 (G5) que corresponde al número del último corral. Esta actividad se hizo semanalmente alternándose el inicio de cada semana como se muestra en el siguiente calendario de observaciones:

Cuadro 1.

Calendario de observación de los estados y eventos conductuales

SEMANA	<i>Lunes</i>	<i>Martes</i>	<i>Miércoles</i>	<i>Jueves</i>	<i>Viernes</i>
Semana 1	*G1	*G2	*G3	*G4	*G5
Semana 2	*G2	*G3	*G4	*G5	*G1
Semana 3	*G3	*G4	*G5	*G1	*G2
Semana 4	*G4	*G5	*G1	*G2	*G3
Semana 5	*G5	*G1	*G2	*G3	*G4

Nota: *G: Grupo de observación y número de corral. Fuente Con modificaciones: Ramírez *et al.*, (2011) y Siegel, S & Castellan, N (1988).

Con ayuda de hojas formateadas (Anexo.1) que incluía la información del nombre del observador, la hora de inicio de la prueba, hora de término de la prueba, especie, raza y grupo de animales observados, se evaluaron los siguientes eventos conductuales, contado el número de veces que se realizó la actividad durante la prueba:

1. Abandono de la cría por más de 15 minutos (ABNO): cuando la madre se aleja de su cría o le es indiferente por un periodo mayor de 15 minutos. Se midió **Frecuencia absoluta** (número de veces durante la observación).
2. Convivencia con la cría (TC): número de veces cuando la madre o la cría se acercan a menos 10cm o chocan su cuerpo para interactuar. Se midió **Frecuencia absoluta** (número de veces durante la observación).
3. Amamantamiento (AMAM): cuando el cordero succionó por primera vez durante la observación uno de los pezones de la madre, registrándose el número de veces que lo hizo durante la hora de observación. Se midió **Frecuencia absoluta** (número de veces durante la observación).

4. Acicalamiento a la cría (ACC): El acicalamiento se define como el momento en que la madre frota alguna parte del cuerpo del cordero con la lengua o con su cabeza. Se midió **Frecuencia absoluta** (número de veces durante la observación).
5. Acicalamiento con el medio (ACMEDIO): es cuando la madre frota alguna parte del cuerpo en alguna instalación del corral, jaula, contendor, paridero, etc. Se midió **Frecuencia absoluta** (número de veces durante la observación).
6. Olfateo a la cría (OFC): número de veces durante la observación en la que la madre se acerca para oler a su cría (acercar su nariz hacia el cordero a una distancia menor de cinco cm, con la intención de olerlo). Se midió **Frecuencia absoluta** (número de veces durante la observación).
7. Mordisco cría a madre o madre a cría (MORC): número de veces que la madre o la cría intentan mordidas o las realizan durante la prueba. Se midió **Frecuencia absoluta** (número de veces durante la observación).
8. Contacto naso nasal con la cría (NC): número de veces que acerca su nariz para oler a su cría o crías adoptadas. Se midió **Frecuencia absoluta** (número de veces durante la observación).
9. Conductas de alerta (AL): cabeza erguida, ojos exaltados, orejas rígidas, exaltación de la madre a estímulos lumínicos, sonoros, visuales, intervenciones físicas (personas desconocidas, personal de trabajo o animales no ovinos dentro del corral). Se midió **Frecuencia absoluta** (número de veces durante la observación).
10. Vocalización por parte de la cría (VC): el número de veces que el cordero emitió vocalizaciones con el hocico abierto (balidos altos) o cerrado (balidos bajos). Se midió **Frecuencia absoluta** (número de veces durante la observación).

11. Vocalización por parte de la madre (VM): el número de veces que la hembra emitió vocalizaciones con el hocico abierto (balidos altos) o cerrado (balidos bajos). Se midió **Frecuencia absoluta** (número de veces durante la observación).

12. Marcaje químico (MARQ): número de veces que la hembra orinó o defecó durante la prueba. Se midió **Frecuencia absoluta** (número de veces durante la observación).

4.3 ANÁLISIS EXPLORATORIO DE EVENTOS CONDUCTUALES

Se realizó un análisis de estadística descriptiva (medidas de dispersión y de tendencia central) para elaborar una exploración inicial de la base de datos, a estas pruebas exploratorias, también se les aplicó una gráfica de cajas para ver el comportamiento de cada una de las pautas por raza por variable. Eso se ocupó para la organización, tabulación, presentación y reducción de la información de las pautas conductuales.

Para evaluar las variables conductuales antes mencionadas se usó la prueba de Kolmogórov-Smirnov (K-S) para verificar la normalidad estadística. Las ventajas de esta prueba es que no hay pérdida de información por agrupamiento, se usa para muestras pequeñas (para muestras intermedias es más potente), pueden hacerse contrastes unilaterales, permite calcular un intervalo de confianza para la distribución de probabilidad de la población, otra ventaja es que permite trabajar con datos continuos y absolutos. Esta prueba compara la función de distribución acumulada empírica (ECDF) de los datos de la muestra, con la distribución esperada si los datos fueran normales. Si esta diferencia observada es adecuadamente grande, la prueba rechazará la hipótesis nula de normalidad de la población. Si el valor p de esta prueba es menor que el nivel de significancia (α) elegido, se puede rechazar la hipótesis nula y concluir que se trata de una población no normal, la prueba se realizó mediante el programa R.

Para evaluar las diferencias entre las tres razas se empleó un modelo lineal generalizado. Se evaluaron las distribuciones Identidad y Poisson, para seleccionar el mejor modelo se utilizó el Criterio de Información Bayesiano (BIC); para las variables, el mejor modelo fue el que utilizó la distribución de Poisson con función liga (LINK) logarítmica; mientras que para algunas variables se utilizó la distribución normal con la función liga de Identidad. Para la comparación por pares de las medias marginales estimadas se utilizó el ajuste de Bonferroni. Este análisis se ejecutó en el procedimiento GENLIN implementado en el paquete estadístico IBM® SPSS Statistics versión 22.

4.4 DISTRIBUCIÓN, REDUCCIÓN Y CORRELACIÓN DE LAS PAUTAS DE CONDUCTA

Se transformaron el conjunto de pautas de conducta originales, en un nuevo conjunto de variables denominadas componentes principales usando la rotación *Varimax* que minimiza el número de variables que tienen cargas altas en cada factor, simplificando la interpretación de los valores.

Este análisis sirvió para modelar la distribución de todas las variables de comportamiento por raza, para realizar este análisis se utilizó el programa R.

4.5 PURIFICACIÓN O EXTRACCIÓN DE ADN TOTAL

Las muestras sanguíneas se tomaron en la vena yugular de los borregos, utilizando tubos con EDTA y usando agujas calibre 21 X 38 con un sistema colector vacutainer, los tubos con sangre fueron mantenidos en refrigeración.

Se purificó el ADN mediante el kit comercial DNeasy Blood & Tissue Kit Qiagen, utilizando las instrucciones del fabricante.

Para evaluar la calidad del ADN, se utilizó electroforesis en geles de agarosa al 1% .El buffer empleado fue TAE 1X (40mM Tris, 20mM ácido acético, y 1mM EDTA pH8)

y utilizando como marcador de peso molecular ADN del bacteriófago λ digerido con BstEII (λ /BstEII 100 ng/ μ l). Los geles se tiñeron con bromuro de etidio [5mg/mL en H₂O] por 2 min, desteñido en agua por 10 min y posteriormente se visualiza con luz ultravioleta (UV) en un fotodocumentador UVP.

El ADN se cuantificó por espectrofotometría a 260 y 280 nanómetros en un espectrofotómetro (Epoch, BioTek Modelo Epochh # 131168). Las muestras se ajustaron al menos 20 μ l de DNA genómico diluido en buffer TE (01mM EDTA, 10mM Tris Hcl, pH 8.0) a una concentración de 50 ng/ml (1000 ng en total), de acuerdo al protocolo de unidad de Microarreglos del Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN).

4.6 ANÁLISIS GENÓMICO Y BIOINFORMÁTICO

La genotipificación se hizo mediante el microarreglo OvineSNP50 DNA Analysis ©, en un equipo de escáner de microarreglos de la marca Illumina (iScan System), siguiendo las instrucciones del fabricante (Illumina 2017). Este microarreglo contiene 54,241 marcadores tipo SNP. Una vez hecho la genotipificación se obtuvieron los archivos en *Linkage Format* (.ped y .map), para realizar Asociación Genómica.

4.7 ESTUDIO DE ASOCIACIÓN GENÓMICA (GWAS)

Para realizar la asociación genómica se empleó el programa PLINK 1.07 Purcell *et al.*, (2007). PLINK es un conjunto gratuito de herramientas de análisis de asociación de genoma completo de código abierto, diseñado para realizar un rango de análisis básico a gran escala de manera computacionalmente eficiente. Los análisis incluyeron rutinas sobre control de calidad de los datos: se extrajeron de las muestras los SNP con frecuencia del alelo menor con valor menor o igual al 5% ($maf = 0.05$), se identificaron y se excluyeron individuos con alelos perdidos (*Missing*), menores al 10% ($mind 0.1$), se identificaron y se excluyeron individuos cuya tasa de éxito de genotipado fue menor al 90% ($geno 0.1$). Esto se realizó para evitar la

presencia de marcadores genéticos con baja tasa de genotipificación y/o individuos de bajo éxito de genotipificado, finalizando con total de 47,995 marcadores.

La asociación se realizó entre razas usando un análisis de X^2 para un análisis de asociación de caso / control estándar (.assoc) que contiene los campos: Cromosoma *CHR*, identificación *SNP ID*, posición física de la *BP* (en pares de bases), nombre del alelo menor *A1* (basado en la muestra completa), frecuencia de este alelo en casos *F_A* (Suffolk y Obispo), frecuencia de este alelo en controles *F_U* (Dorset), nombre del alelo mayor *A2*, prueba alélica básica X^2 *CHISQ*, *p-value* asintótico para esta prueba *P* y Razón de posibilidades estimada *Or (odds ratio)* y se ajustó por múltiples pruebas (“Bonferroni Multiple Testing”) considerando un valor de (*p-value* 0.005) como máximo para establecer significancia (Ioannidis *et al.*, 2009) (Anexo. 2).

4.8 ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES (DISTANCIA GENÉTICA)

Se realizó un Análisis de Componentes Principales (PCA por sus siglas en inglés) usando el programa EIGENSOFT 6.1.3 (Price *et al.*, 2006), que combina la funcionalidad de los métodos de genética de poblaciones y los métodos de corrección de estratificación EIGENSTRAT. El método EIGENSTRAT utiliza el análisis de componentes principales para modelar explícitamente las diferencias de ascendencia entre individuos y grupos de individuos (por ejemplo: casos y controles) a lo largo de los ejes continuos de variación; la corrección de la variación se especifica como la variación de la frecuencia de un marcador candidato en las poblaciones ancestrales, minimizando las asociaciones espurias y maximizando el poder para detectar asociaciones verdaderas. El paquete EIGENSOFT tiene instrucciones de trazado incorporado y admite múltiples formatos de archivo y fenotipos cuantitativos. En este estudio permitió ver la distancia genética que hay entre las razas Dorset, Suffolk y Obispo.

4.9 GRÁFICAS DE MANHATTAN

En esta investigación se elaboró una gráfica de Manhattan con todos los marcadores genéticos del estudio con el valor de p para visualizar aquellos que fueron significativos

4.10 MINERÍA DE DATOS

Se realizó una exploración de los datos genómicos previamente identificados en el ovino, revisando en las bases de datos del *The National Center for Biotechnology Information* (NCBI) usando como guía y motor de búsqueda los marcadores tipo SNP estadísticamente más representativos localizados previamente en el GWAS. La minería de datos permite ubicar los genes en donde se encuentran localizados los SNP, lo que permitió encontrar los genes asociados a la conducta materna en ovinos, previamente identificados en otros estudios y describir su función.

Nota: La información sobre la función de los genes, la estructura y red de interacción fue compilada de las bases de datos de los autores O'Leary NA *et al.*, (2016), publicadas en el *The National Center for Biotechnology Information* (NCBI).

4.11 ANÁLISIS DE HAPLOTIPOS USANDO SNP

Con el propósito de ver la distribución de los SNP se utilizó el programa Haploview 4.1 (Barret *et al.*, 2005) que está diseñado para proporcionar un conjunto completo de herramientas para el análisis de haplotipos de amplia variedad de tamaños de conjuntos de datos. Para este estudio se emplearon los SNP significativos y los SNP vecinos (46kb en promedio entre cada marcador) que se sitúan dentro de los genes localizados en este estudio, formando los bloques respectivos. Este estudio se realizó con el propósito de ver la distribución de los SNP dentro de los genes, permitió analizar si existe correlación entre los diferentes SNP distribuidos dentro de los genes y determinar si su comportamiento es en forma de bloque o si el cambio ocurre únicamente en la variante localizada.

5. RESULTADOS

5.1 ANÁLISIS DE COMPORTAMIENTO

5.1.1 Prueba de Normalidad

Para verificar que todas las pautas de comportamiento tuvieran una distribución normal, Se realizó la prueba de Normalidad Kolmogórov-Smirnov, y se encontró que las pautas de conducta Olfateo a la cría (OFC), Acicalamiento con el medio (ACMEDIO), Acicalamiento a la cría (ACC), Mordisco cría a madre o madre a cría (MORC), Abandono de la cría por más de 15 minutos (ABNO) y Convivencia con la cría (TC), presentan una distribución normal ($P > 0.05$)

5.1.2 Análisis exploratorio de las pautas de comportamiento

Las hembras Dorset presentaron el menor valor (promedio $\pm ee$) para ABNO ($0 \pm 0a$) observándose que prácticamente esta raza de ovinos carece de esta conducta, aptitud que fue diferente para las hembras Obispo ($11 \pm 0.5c$, $P = 0.005$) y Suffolk ($12 \pm 0.23b$, $P < 0.005$). Las medias marginales fueron diferente entre las hembras Obispo y las Suffolk ($P = 0.001$). Para el TC las hembras Dorset presentaron el mayor valor ($7. \pm 0.5a$, $P = 0.05$) en comparación con los registrados en la Obispo ($0 \pm 0c$) y en la Suffolk ($0 \pm 0c$), razas que carecen de esta conducta de convivencia (Figura 1).

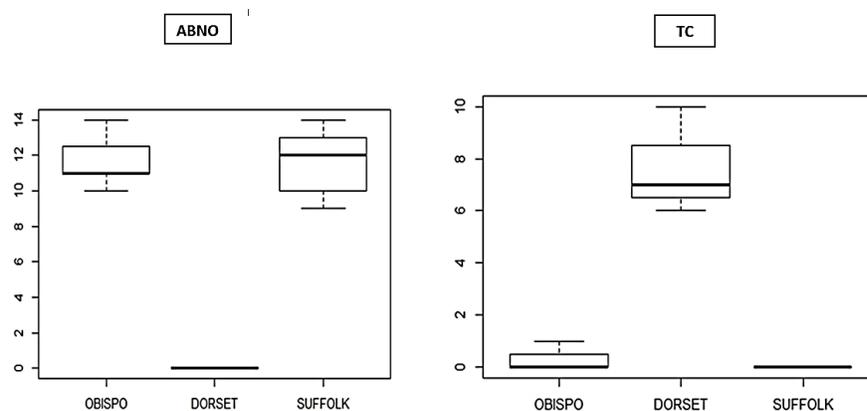


Figura 1. Gráficas de cajas de las pautas de conducta: Abandono de la Cría (ABNO) y Convivencia con la cría (TC), mostrando diferencias por raza.

Para MORC, las hembras Dorset presentaron una media de 4.71 ± 0.8 que fue superior a la de la Suffolk (1.89 ± 0.5 , $P=0.008$) o a de la Obispo (1.33 ± 0.3 , $P<0.0001$), sin que se detectaran diferencias entre estas dos últimas razas ($P>0.05$). Para el Acicalamiento a la cría se presentaron diferencias significativas entre razas ($P<0.01$), las hembras Suffolk presentaron los menores valores (0.33 ± 0.2) en comparación con la Obispo (1.40 ± 0.3) y Dorset (5.71 ± 0.9). En cambio, para el acicalamiento con el medio, las hembras Obispo y Suffolk se comportaron en forma similar presentando medias de 10.6 ± 1.9 y 10.5 ± 2.5 , respectivamente ($P>0.05$) que fueron superiores a las de las hembras Dorset con 1.29 ± 2.8 ($P < 0.05$). De las tres razas, la Dorset es la que presenta la actividad materna más fuerte (Figura 2) (Cuadro 4).

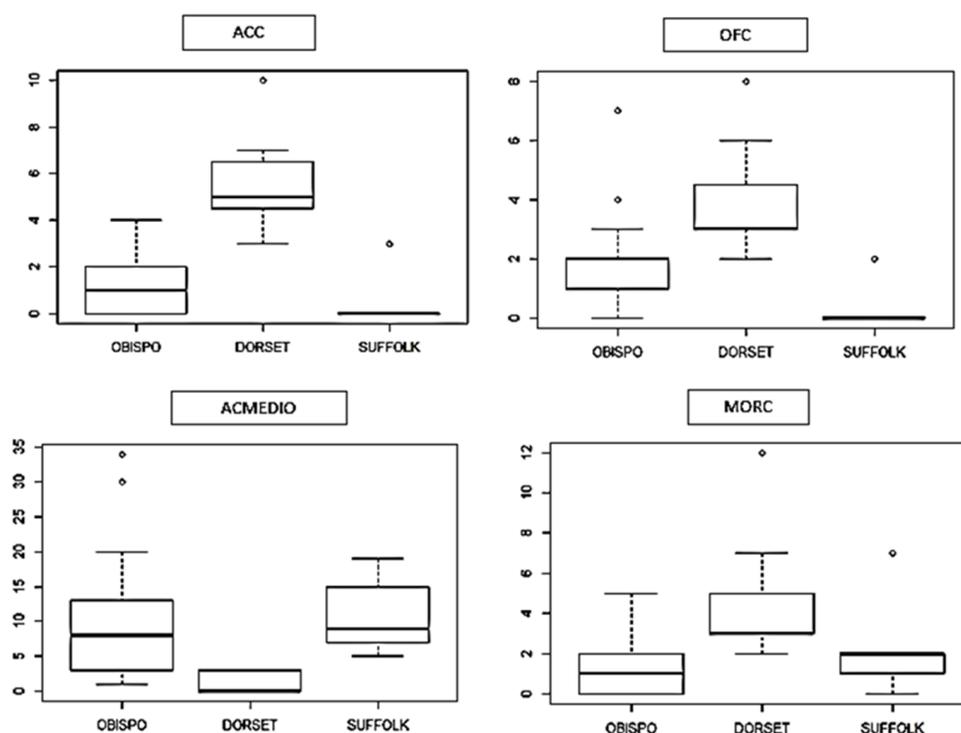


Figura 2. Gráficas de cajas de las pautas de conducta: Acicalamiento a la cría (ACC), Olfateo a la Cria (OFC), Acicalamiento con el medio (ACMEDIO) y Mordisco a la Cría (MORC), mostrando la diferencia por raza.

Cuadro 2.

Diferencia entre pautas de conducta (P.C), evaluando la media de cada una de ellas y el error por raza

RAZA	PAUTAS DE CONDUCTA					
	OFC	MORC	ACC	ACMEDIO	ABNO	TC
	M. E.e	M. E.e	M. E.e	M. E.e	M. E.e	M. E.e
OBISPO	2.07±0.4b	1.33±0.3b	1.40±0.3b	10.67±1.9b	11±0.5b	0±0b
DORSET	4.00±0.8a	4.71±0.8a	5.71±0.9a	1.29±2.8a	0±0a	7.±0.5a
SUFFOLK	0.44±0.2c	1.89±0.5b	0.33±0.2c	10.56±2.5b	12±0.23b	0±0b

Nota. *Letras distintas dentro de las pautas de conducta indican diferencias en la significancia entre razas. Prueba de Bonferroni ($P < 0.05$), entre las diferentes razas y las pautas de comportamiento, ** Media Marginal (M) Error estándar (E.e).

Las hembras Dorset presentaron el mayor promedio ($\pm ee$) para el olfateo de la cría (4 ± 0.8) en comparación a los observados en las hembras Obispo (2.07 ± 0.4 , $P = 0.065$) y Suffolk ($.44 \pm 0.2$, $P < 0.0001$), las medias marginales también fueron diferente entre las hembras Obispo y las Suffolk ($P = 0.001$). Para MORC, las hembras Dorset presentan una media de 4.71 ± 0.8 que fue superior a la Suffolk (1.89 ± 0.5 , $P = 0.008$) o a la Obispo (1.33 ± 0.3 , $P < 0.0001$) sin que se detectaran diferencias entre estas dos últimas razas ($P > 0.05$) (Cuadro 4).

Para el Acicalamiento a la cría, las hembras de las tres razas presentaron diferencias significativas entre ellas ($P < 0.01$), la Suffolk registró el menor valor (0.33 ± 0.2) en comparación con la Obispo (1.40 ± 0.3) y Dorset (5.71 ± 0.9). En contraste en el caso del acicalamiento con el medio, las hembras Obispo y Suffolk se comportaron en forma similar presentando medias de 10.6 ± 1.9 y 10.5 ± 2.5 , respectivamente ($P > 0.05$) que fueron superiores a las observadas en las hembras Dorset con un valor de 1.29 ± 2.8 ($P < 0.05$). De las tres razas evaluadas, la Dorset fue la que presentó la actividad materna más fuerte (Cuadro 4).

5.1.3 Análisis de componentes principales

Se realizó un análisis de componentes principales (PCA) para analizar de manera espacial las diferencias entre cada una de las razas respecto a su actividad materna, observándose una fuerte diferencia entre razas con respecto a la conducta y pautas de comportamiento materno (Figuras 3).

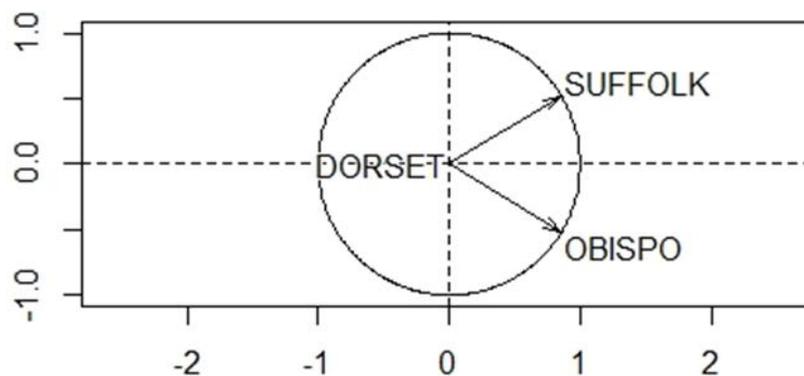


Figura 3. Análisis de Componentes Principales (PCA) empleando las pautas de comportamiento

5.2 ANÁLISIS GENÓMICO

5.2.1 Distancia genética

Los resultados del PCA muestran la Distancia genética entre las razas de ovinos Suffolk (SUF), Dorset (DOR) y Obispo (Cr), se puede apreciar las clasificaciones de los componentes principales 1 y 2 (Figura. 4) donde se observa la separación entre la raza Obispo respecto a las razas europeas (Dorsert y Suffolk). En la figura. 5 se observan las clasificaciones del componente principal 1 y 3 de los datos del genoma completo ovino de las tres razas evaluadas en este estudio. Esta perspectiva nos permite apreciar claramente las diferencias genéticas entre las 3 razas.

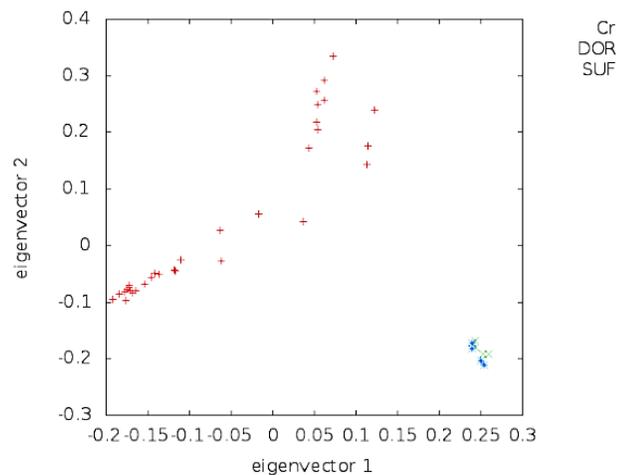


Figura 4. Análisis de Componentes Principales usando el eigenvector 1 y 2

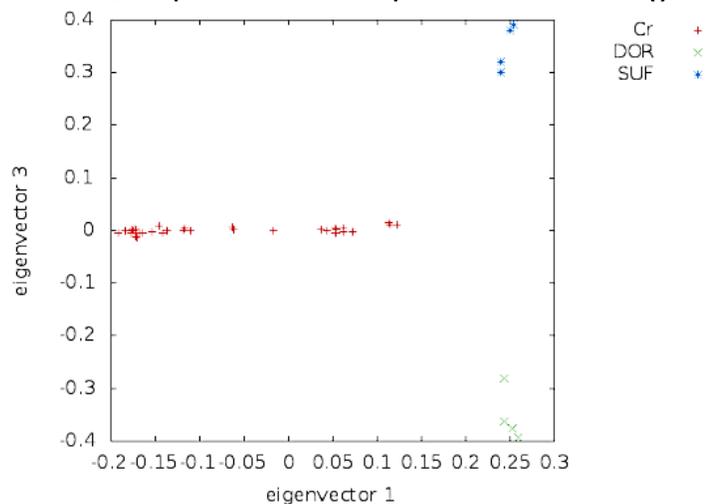


Figura 5. Grafica de las clasificaciones del Componente principal 1 y el 3 utilizando los datos genómicos.

5.2.2 Resultados del GWAS

Mediante la asociación se pudieron localizar los marcadores genéticos asociados a la conducta materna y también localizar sus respectivos genes. En la figura 7 se muestran gráficamente los SNP significativos con un $-\log_{10}(p) > 6$, en los Cuadros. 5 y 6 se presentan los nueve marcadores genéticos más relacionados con la conducta materna protectora ($p < 0.005$). En el anexo 2, se presenta la relación de SNP que tuvieron una $p < 0.05$ y en la figura 7 tienen un valor de $-\log_{10}(p) \geq 6$

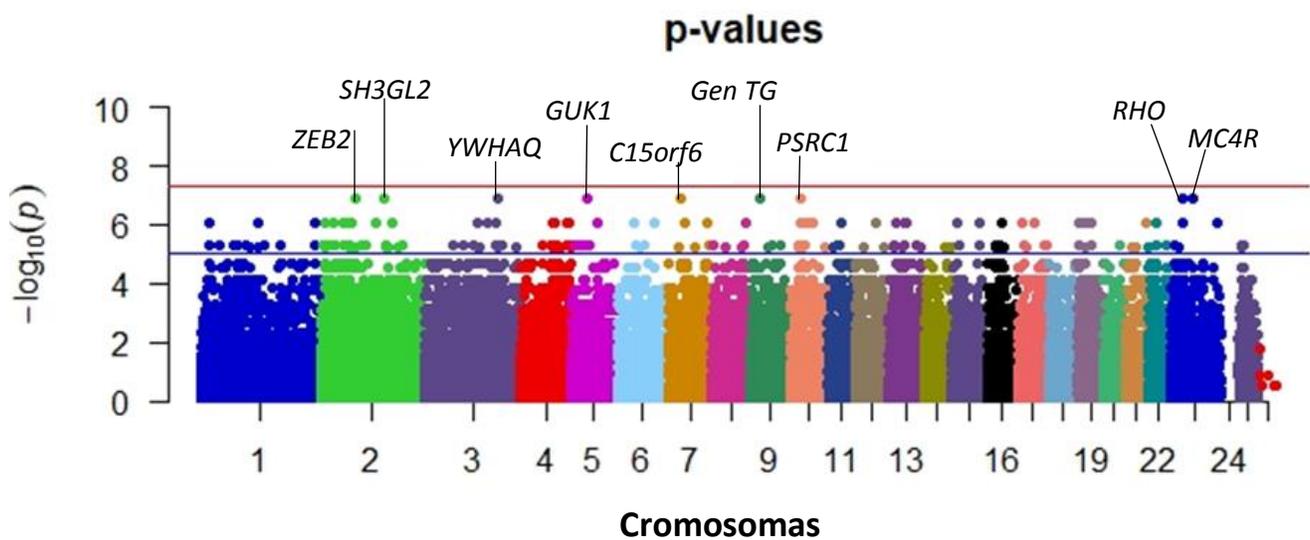


Figura 6. *Manhattan plot* con todos los marcadores resultantes de la Asociación del Genoma Completo entre los grupos de individuos con el rasgo de conducta materna más y menos acentuado (Dorset y Suffolk), en la porción más alta los marcadores son mayor significancia estadística señalando el gen donde se encuentran.

Cuadro 3.

Marcadores genéticos localizados en el Estudio de Asociación de Genoma Completo (GWAS): Suffolk (S), Dorset (D).

Cromosoma	SNP	*A1	*FS	*FD	*A2	<i>p-value</i>	Gen
2	**OAR2_162810404.1	T	1	0	C	0.005	***ZEB2
2	**OAR2_89841590.1	C	1	0	T	0.005	***SH3GL2
3	**OAR3_182984169.1	T	1	0	C	0.005	***YWHAQ
5	**s26518.1	A	1	0	G	0.005	***GUK1
7	**OAR7_31172405.1	C	1	0	T	0.005	***C15orf62
9	**OAR9_21225274.1	C	1	0	T	0.005	***Gen TG
10	**OAR10_23753028.1	A	1	0	G	0.005	***PSRC1
23	**OARX_35237878.1	G	1	0	A	0.005	***RHO
23	**OAR23_59102681.1	C	1	0	T	0.005	***MC4R

Nota: * **Nombre del marcador tipo SNP localizado,***gen localizado. *p-value* ajustado por Bonferroni (BF). *A1 alelo 1, FS frecuencia de alelo Suffolk (S), FD frecuencia de alelo Dorset (D), A2 alelo 2.

Cuadro 4.

Marcadores genéticos localizados en el Estudio de Asociación de Genoma Completo (GWAS): Obispo (Cr), Dorset (D).

Cromosoma	SNP	*A1	*FCr	*FD	*A2	<i>p-value</i>	Gen
2	**OAR2_162810404.1	T	0.5	0	C	0.005	***ZEB2
2	**OAR2_89841590.1	C	0.5	0	T	0.005	***SH3GL2
3	**OAR3_182984169.1	T	0.5	0	C	0.005	***YWHAQ
5	**s26518.1	A	0.5	0	G	0.005	***GUK1
7	**OAR7_31172405.1	C	0.5	0	T	0.005	***C15orf62
9	**OAR9_21225274.1	C	0.5	0	T	0.005	***Gen TG
10	**OAR10_23753028.1	A	0.5	0	G	0.005	***PSRC1
23	**OARX_35237878.1	G	0.5	0	A	0.005	***RHO
23	**OAR23_59102681.1	C	0.5	0	T	0.005	***MC4R

Nota: * Obispo (Cr), Dorset (D), **Nombre del marcador tipo SNP localizado,***gen localizado. *p-value* ajustado por Bonferroni (BF). *A1 alelo 1, FCr frecuencia de alelo Obispo (S), FD frecuencia de alelo Dorset (D), A2 alelo 2.

5.2.3 Resultados de Haplotipos

Esta sección analiza los marcadores genéticos resultantes de la asociación genética localizados en los cromosomas 2, 3, 7, 9, 10 y 23 respectivamente. Pertenecientes a los genes *ZEB2*, *SH3GL2*, *YWHAQ*, *GUK1*, *C15orf62*, *TG*, *PSRC1*, *ROH* y *MC4R*.

En los marcadores genéticos *OAR2_162810404.1* y *s26518.1* pertenecientes a los genes *ZEB2* y *GUK1*. Se presentaron de manera única, sin tener más SNP colindantes dentro de su respectivo gen. Para el resto de los marcadores se encontraron SNP a un distancia promedio entre ellos de 45kb.

Los Resultados para las razas Dorset y Suffolk se muestran un comportamiento homocigótico de los marcadores genéticos, la raza Obispo en particular presentó un comportamiento Heterocigótico, dado su proceso de recombinación particular.

Cuadro 5. Marcador genético OAR2_162810404.1 que pertenece al gen ZEB2

****OAR2_162810404.1**

*DORSET	*SUFFOLK	*OBISPO
***C/C	***T/T	***T/C

Nota: *Nombre de cada raza, **Marcador tipo SNP, ***Genotipo. Este cuadro muestra el comportamiento homocigótico del marcador genético *OAR2_162810404.1* que se encuentra en el cromosoma 2 ovino y pertenece al gen *ZEB2*, solo se localizó un marcador para este gen.

Cuadro 6. Marcador genético OAR2_89841590.1 que pertenece al gen SH3GL2

****OAR2_89841590.1**

*DORSET	*SUFFOLK	*OBISPO
***T/T	***C/C	***T/C

Nota: *Nombre de cada raza, **Marcador tipo SNP, ***Genotipo. Este cuadro muestra el comportamiento homocigótico del marcador genético *OAR2_89841590.1* que se encuentra en el cromosoma 2 ovino que pertenece al gen *SH3GL2* y sus respectivos SNP colindantes.

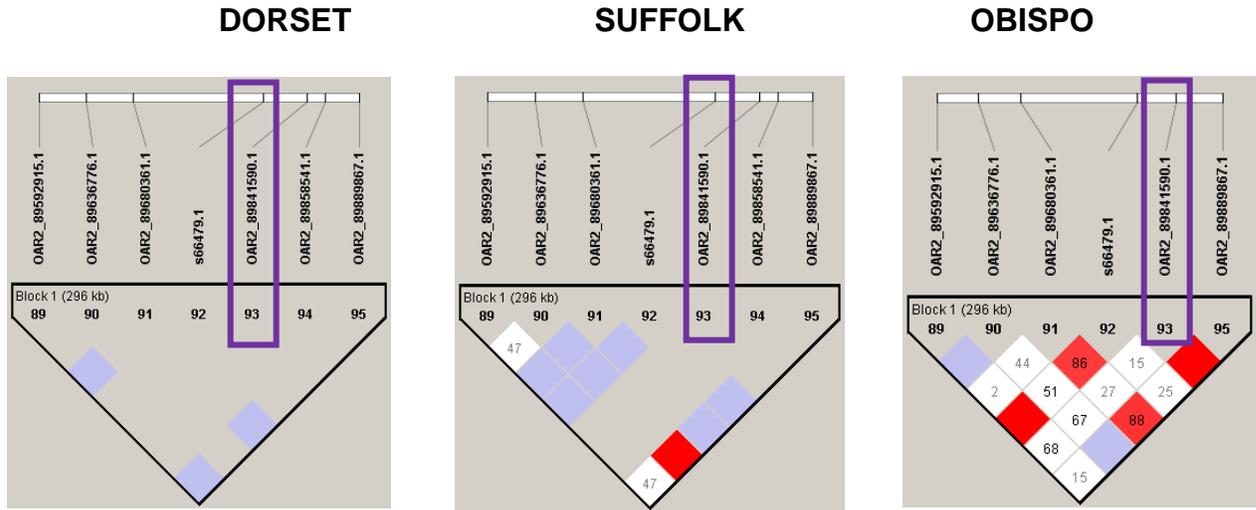


Figura 7: *Haploview plot* donde se muestra el comparativo por raza del marcador *OAR2_89841590.1*, mostrando que no existe una correlación con todos los marcadores presentes en el gen *SH3GL2*.

Cuadro 7. Marcador genético *OAR3_182984169.1* que pertenece al gen *YWHAQ*

**OAR3_182984169.1		
*DORSET	*SUFFOLK	*OBISPO
***C/C	***T/T	***T/C

Nota: *Nombre de cada raza, **Marcador tipo SNP, ***Genotipo. Este cuadro muestra el comportamiento homocigótico del marcador genético *OAR3_182984169.1* que se encuentra en el cromosoma 3 ovino que pertenece al gen *YWHAQ* y sus respectivos SNP colindantes.

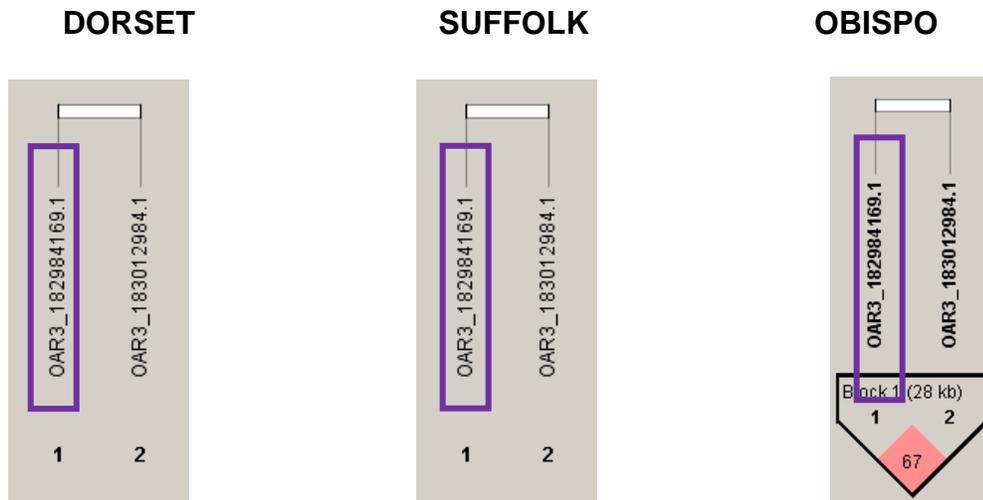


Figura 8: *Haploview plot* donde se muestra el comparativo por raza del marcador OAR3_182984169.1, mostrando que no existe una correlación con todos los marcadores presentes en el gen *YWHAQ*.

Cuadro 8. Marcador genético *s26518.1* que pertenece al gen *GUK1*.

**s26518.1		
*DORSET	*SUFFOLK	*OBISPO
***A/A	***C/C	***C/A

Nota: *Nombre de cada raza, **Marcador tipo SNP, ***Genotipo. Este cuadro muestra el comportamiento homocigótico del marcador genético *s26518.1* que se encuentra en el cromosoma 5 ovino que pertenece al gen *GUK1*. Solo se localizó un marcador para este gen.

Cuadro 9. Marcador genético *OAR7_31172405.1* que pertenece al gen *C15orf62*

**OAR7_31172405.1		
*DOSERT	*SUFFOLK	*OBISPO
***T/T	***C/C	***C/T

Nota: *Nombre de cada raza, **Marcador tipo SNP, ***Genotipo. Este cuadro muestra el comportamiento homocigótico del marcador genético *OAR7_31172405.1* que se encuentra en el cromosoma 7 ovino que pertenece al gen *C15orf62* y sus respectivos SNP colindantes.

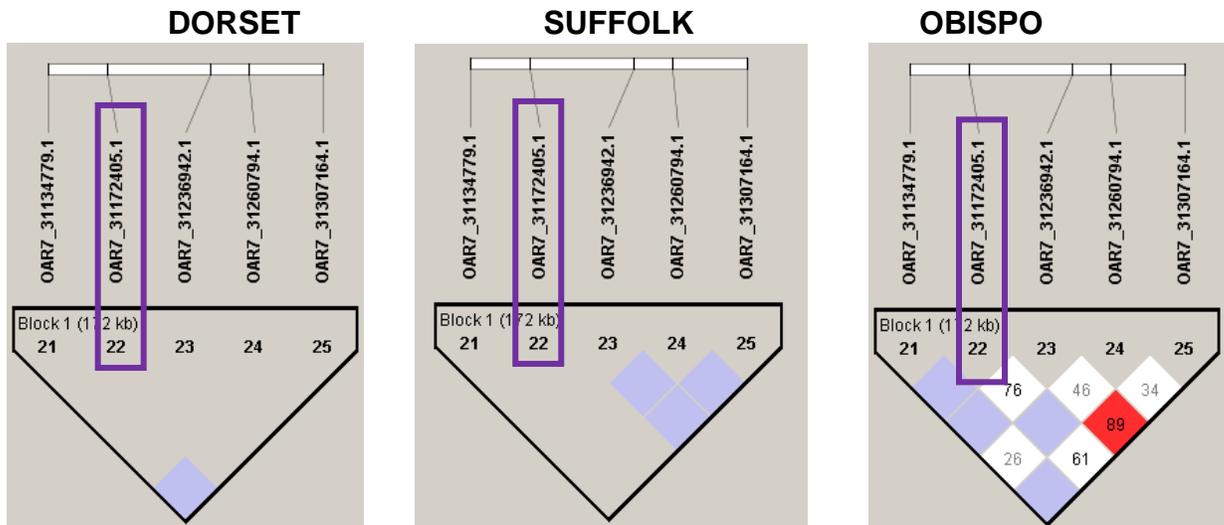


Figura 9: *Haploview plot* donde se muestra el comparativo por raza del marcador *OAR7_31172405.1*, mostrando que no existe una correlación con todos los marcadores presentes en el gen *C15orf62*.

Cuadro 10. Marcador genético *OAR9_21225274.1* que pertenece al gen *TG*

****OAR9_21225274.1**

*DORSET	*SUFFOLK	*OBISPO
***T/T	***C/C	***C/T

Nota: *Nombre de cada raza, **Marcador tipo SNP, ***Genotipo. Este cuadro muestra el comportamiento homocigótico del marcador genético *OAR9_21225274.1* que se encuentra en el cromosoma 9 ovino que pertenece al gen *TG* y sus respectivos SNP colindantes.

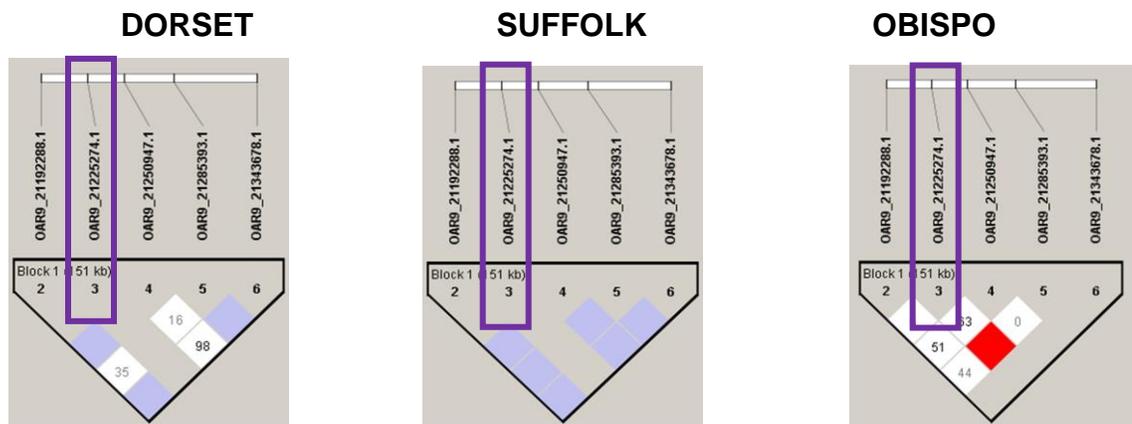


Figura 10: *Haploview plot* donde se muestra el comparativo por raza del marcador *OAR9_21225274.1*, mostrando que no existe una correlación con todos los marcadores presentes en el gen *TG*.

Cuadro 12. Marcador genético *OAR10_23753028.1* que pertenece al gen *PSRC1*.

****OAR10_23753028.1**

*DORSET	*SUFFOLK	*OBISPO
***T/T	***C/C	***C/T

Nota: *Nombre de cada raza, **Marcador tipo SNP, ***Genotipo. Este cuadro muestra el comportamiento homocigótico del marcador genético *OAR10_23753028.1* que se encuentra en el cromosoma 10 ovino que pertenece al gen *PSRC1* y sus respectivos SNP colindantes.

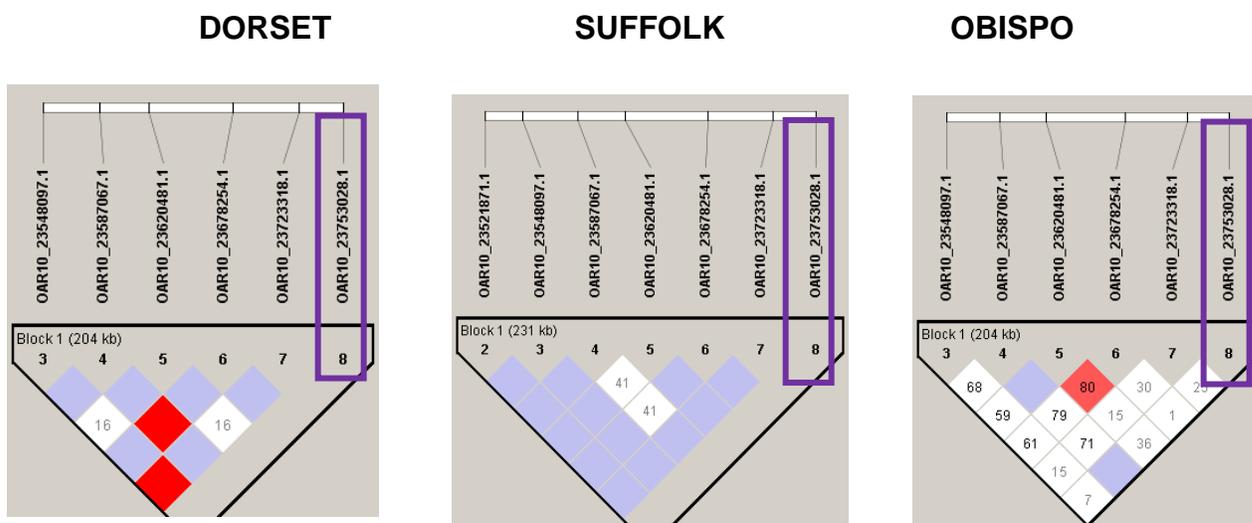


Figura 11: *Haploview plot* donde se muestra el comparativo por raza del marcador *OAR10_23753028.1*, mostrando que no existe una correlación con todos los marcadores presentes en el gen *PSRC1*.

Cuadro 13. Marcador genético *OARX_35237878.1* que pertenece al gen *RHO*

****OARX_35237878.1**

*DOSERT	*SUFFOLK	*OBISPO
***T/T	***C/C	***C/T

Nota: *Nombre de cada raza, **Marcador tipo SNP, ***Genotipo. Este cuadro muestra el comportamiento homocigótico del marcador genético *OARX_35237878.1* que se encuentra en el cromosoma 23 ovino que pertenece al gen *RHO* y sus respectivos SNP colindantes.

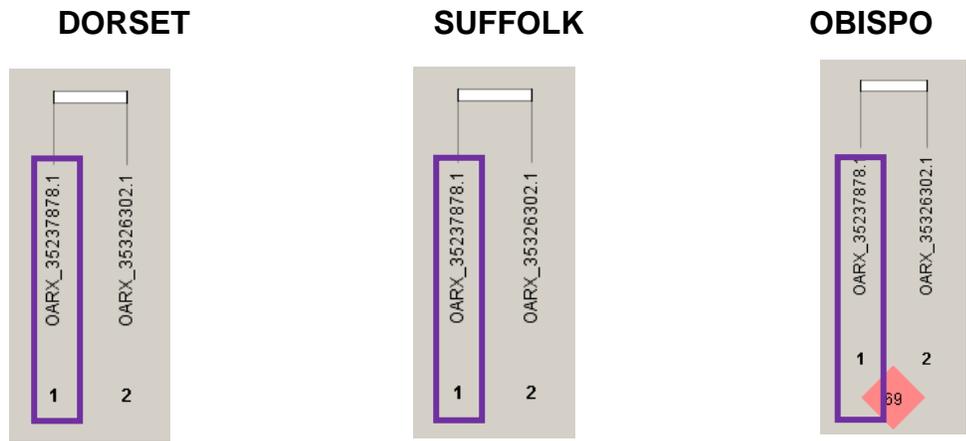


Figura 12: Haploview plot donde se muestra el comparativo por raza del marcador OARX_35237878.1, mostrando que no existe una correlación con todos los marcadores presentes en el gen RHO.

Cuadro 14. Marcador genético OAR23_59102681.1 que pertenece al gen MC4R.

****OAR23_59102681.1**

*DOSERT	*SUFFOLK	*OBISPO
***T/T	***C/C	***C/T

Nota: *Nombre de cada raza, **Marcador tipo SNP, ***Genotipo. Este cuadro muestra el comportamiento homocigótico del marcador genético OAR23_59102681.1 que se encuentra en el cromosoma 23 ovino que pertenece al gen MC4R y sus respectivos SNP colindantes

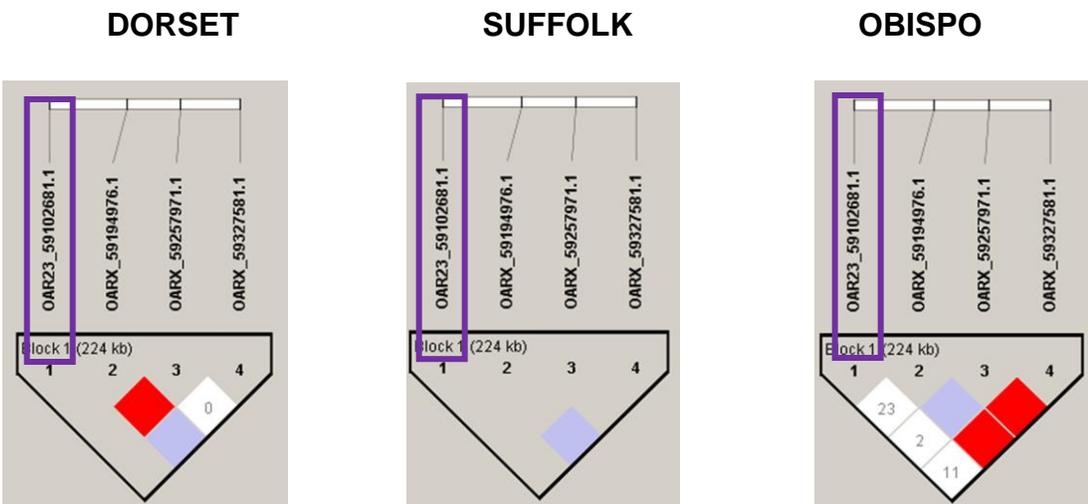


Figura 13: Haploview plot donde se muestra el comparativo por raza del marcador OAR23_59102681.1, mostrando que no existe una correlación con todos los marcadores presentes en el gen MC4R.

5.2.4 Función de los Genes localizados

5.2.4.1 Gen *ZEB2*

El gen *ZEB2* (anteriormente también conocido como SMADIP1, SIP1) pertenece a la familia Zeb dentro de la clase ZF (dedo de zinc) de los factores de transcripción de homeodominio. En la Figura 8 se presenta un modelo tridimensional de la proteína codificada. La proteína *ZEB2* tiene 8 dedos de zinc y 1 homeodominio. Localizado en el cromosoma 2 Ovino, la principal función de este gen es interactuar con SMAD de longitud completa activados y mediar receptores. La activación de los receptores TGF β provoca la fosforilación de moléculas efectoras intracelulares R-SMAD. La proteína codificada *ZEB2* actúa como un corsario de transcripción de los tejidos diferenciados de la cresta neural (Wang *et al.*, 2017).

Estudios en humanos indican que los transcritos de *ZEB2* se encuentran en tejidos diferenciados de la cresta neural, como los ganglios del nervio craneal, los ganglios de la raíz dorsal, las cadenas ganglionares simpáticas, el sistema nervioso entérico y los melanocitos (Wang *et al.*, 2017). *ZEB2* también se encuentra en tejidos que no se derivan de la cresta neural, incluida la pared del tracto digestivo, los riñones y los músculos esqueléticos (Khan *et al.*, 2016)

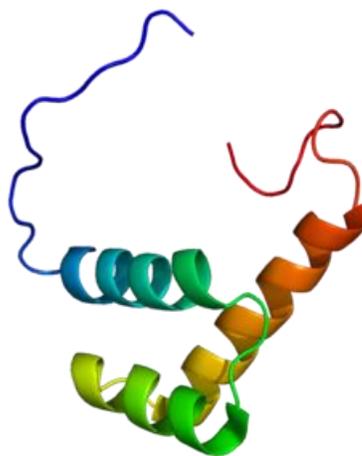


Figura 14. Estructura de la proteína codificada por el gen *ZEB2*. Fuente Wang *et al.*, (2017). Estructura libre para usar en texto (O'Leary *et al.*, 2016).

5.2.4.2 Gen *SH3GL2*

Este gen codifica para una endorfina A1, se localiza en el cromosoma 2 ovino y está Implicado en la endocitosis de vesículas sinápticas (Figura 9). Investigaciones en humanos describen que puede reclutar otras proteínas a membranas con alta curvatura. Es necesario para el crecimiento de dendritas dependiente de BDNF. Coopera en mediar el tráfico endocítico temprano de BDNF-NTRK2 y la señalización de los primeros endosomas. Se expresa principalmente en Cerebro, sobre todo en la corteza frontal. Expresándose en niveles altos en el cerebelo fetal (Giachino *et al.*,1997)



Figura 15. Estructura de la proteína codificada por el gen *SH3GL2*. Fuente: Giachino *et al.*, (1997) Estructura libre para usar en texto (O'Leary *et al.*, 2016).

5.2.4.3 Gen *YWHAQ*

La proteína theta de activación de la tirosina 3-monooxigenasa / triptófano 5-monooxigenasa, también conocida como proteína theta 14-3-3 o *YWHAQ*, es una proteína codificada en ovinos por el gen *YWHAQ*, localizada en el cromosoma 3 ovino (Figura 10). La proteína *YWHAQ* pertenece a la familia de proteínas 14-3-3 que media en la transducción de señales por la unión a proteínas que contienen fosfoserina (Figura 10). Esta familia de proteínas está altamente conservada y puede encontrarse tanto en las plantas como en los mamíferos. Contiene en su extremo UTR 5 'una secuencia repetida en tándem que es polimórfica. Su función principal es de Proteína adaptadora implicada en la regulación de un amplio espectro de vías de señalización tanto generales como especializadas, principalmente vías de señalización neuronales y canales dependientes de sodio (Malaspina *et al.*, 2008).

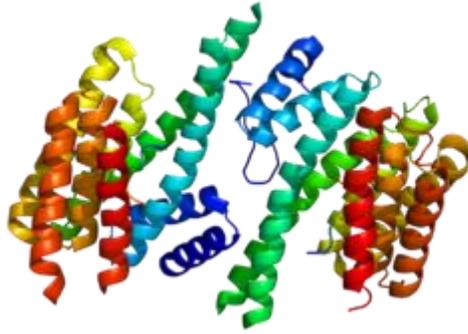


Figura 16. Estructura de la proteína codificada por el gen YWHAQ. Fuente: Malaspina *et al.*, (2008). Estructura libre para usar en texto (O'Leary *et al.*, 2016).

5.2.4.4 Gen *GUK1*

En humanos este gen codifica para la enzima Guanilato quinasa (EC 2.7.4.8) cataliza la fosforilación de GMP a GDP o de dGMP a dGDP y es una enzima esencial en las vías del metabolismo de los nucleótidos (Figura 11). Es muy abundante en tejido neural y neuronas motoras. Se encuentra localizado en el cromosoma 5 ovino. (Fitzgibbon *et al.*,1996).

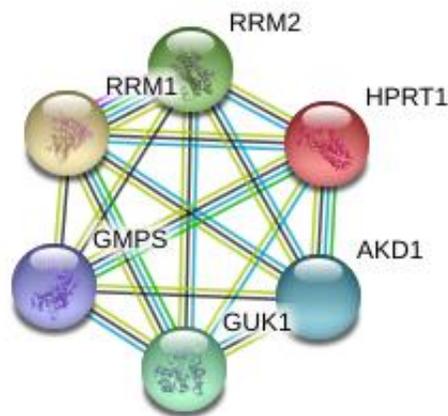


Figura 17. Red de interacción del gen GUK1. Fuente: Fitzgibbon *et al.*,(1996).Estructura libre para usar en texto (O'Leary *et al.*, 2016).

5.2.4.5 Gen *C15orf62*

Este gen codifica para el ORF *C15orf62*, el “marco abierto de lectura o marco de lectura abierta” por sus siglas en ingles “Open Reading Frame” (ORF) a la secuencia de ARN comprendida entre un codón de inicio (AUG) de la traducción y un codón de

terminación, descontando las secuencias que corresponden a los intrones, en caso de haberlas (Pruitt *et al.*, 2014). Se encuentra acotado por los UTR (es decir, las secuencias no traducidas), se sabe que regula la actividad del gen FABP4 se ha asociado al crecimiento celular y contenido de grasa intramuscular (Figura 18). Este Marco abierto de lectura localizado en cromosoma 7 ovino, es abundante en la corteza cerebral, en neuronas y comprende funciones reguladoras (tálamo-hipofisarias), se ha asociado a problemas de ansiedad y estrés mental en seres humanos (Meier *et al.*, 2019).

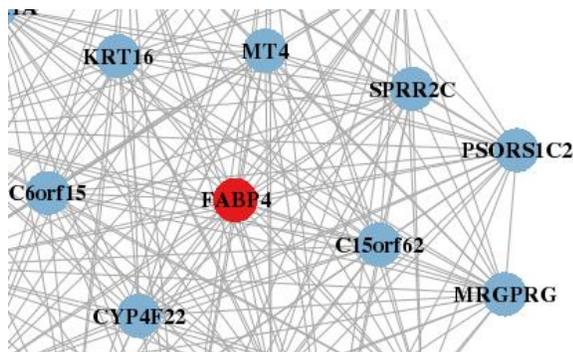


Figura 18. Localización genética del gen *C15orf62*. Fuente: Pruitt *et al.*, (2014) Estructura libre para usar en texto (O'Leary *et al.*, 2016).

5.2.4.6 Gen *TG*

Este gen se encuentra en el cromosoma 9 ovino, se sabe que en humanos y mamíferos proporciona instrucciones para producir una proteína llamada tiroglobulina, una de las proteínas más del organismo (Figura 13). Esta proteína se encuentra solo en la glándula tiroides. La tiroglobulina se combina con el yodo y se modifica y descompone para liberar moléculas pequeñas conocidas como hormonas tiroideas. Las hormonas tiroideas desempeñan un papel importante en la regulación del crecimiento, el desarrollo cerebral y la velocidad de las reacciones químicas en el cuerpo (metabolismo). La tiroglobulina también sirve como almacén de proteínas para el yodo y la hormona tiroidea inactiva hasta que se necesiten estas sustancias (Pardo *et al.*, 2009).



Figura 19. Estructura de la Tiroglobulina codificada por el Gen *TG*. Fuente: (Pardo *et al.*, 2009). Estructura libre para usar en texto (O'Leary *et al.*, 2016).

5.2.4.7 Gen *PSRC1*

La proteína de la bobina enrollada rica en prolina / serina 1 es una proteína que en los ovinos está codificada por el gen *PSRC1* y se encuentra en el cromosoma 10. Este gen codifica una proteína rica en prolina. Los estudios en humanos y animales relacionados sugieren que este gen está regulado por p53 y puede participar en la supresión del crecimiento mediada por p53 (Figura 14). Alternativamente en mamíferos, se han descrito variantes de transcripción empalmadas que codifican diferentes isoformas que participan en la diferenciación de células nerviosas y mitosis celular, desarrollo de la hipófisis y el tálamo (Zhang *et al.*, 2013).

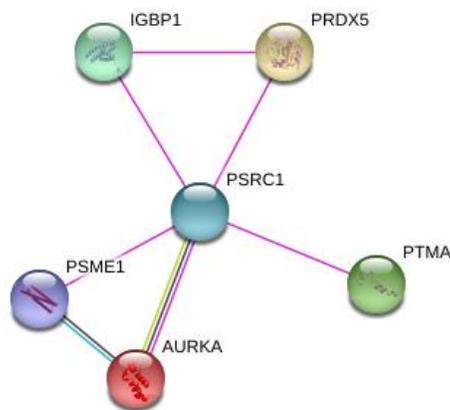


Figura 20. Red de interacción del gen *PSRC1*, Fuente: (Zhang *et al.*, 2013). Estructura libre para usar en texto (O'Leary *et al.*, 2016).

5.2.4.8 Gen *RHO*

En humanos se sabe que este gen que codifica para la proteína RHO. Las proteínas RHO son hexámeros proteicos de la familia de las helicasas. Se localizó en el cromosoma 23 ovino. Constituyen un método de terminación de la Transcripción alternativo al habitual (Figura 15). Se unen a zonas del ARN desnudo llamadas sitios rut, e hidrolizan ATP para generar energía que emplean para cerrar la burbuja de transcripción y expulsar el ARN. Aún no se sabe bien cómo actúan, se describen en secciones del tálamo y eventos neuroendocrinos (Heck *et al.*, 2002)

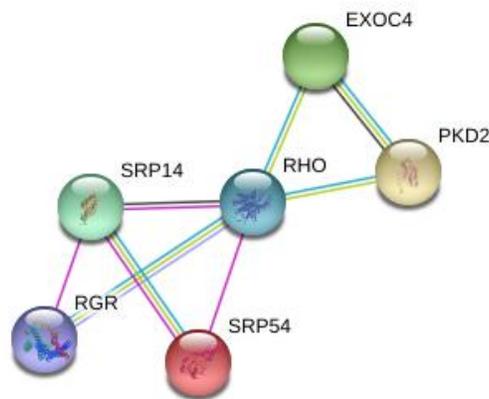


Figura 21. Red de interacción del gen *RHO*. Fuente: Heck *et al.*, (2002). Estructura libre para usar en texto (O'Leary *et al.*, 2016).

5.2.4.9 Gen *MC4R*

El receptor de melanocortina 4 es una proteína está codificada por el gen *MC4R* localizada en el cromosoma 23 ovino (Figura 16). En humanos y mamíferos codifica la proteína *MC4R*, un receptor acoplado a proteína G que se une a la hormona estimulante de melanocitos α (α -MSH), en humanos es un gen asociado a la obesidad. En modelos murinos, se ha encontrado que los receptores MC 4 están involucrados en el comportamiento alimenticio, desarrollo del tálamo, la regulación del metabolismo (conducta de alimentación), el comportamiento sexual-maternal (Willer *et al.*, 2008)

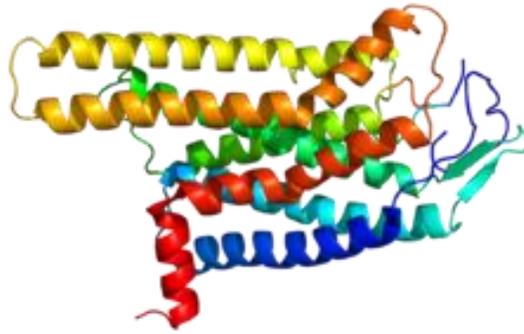


Figura 22. Estructura de la proteína del receptor de melanocortina 4 codificada por el gen *MC4R*. Fuente: (Willer *et al.*, 2008) Estructura libre para usar en texto (O'Leary *et al.*, 2016).

6 DISCUSIÓN Y CONCLUSION

Por lo anterior, se concluye que se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los cuidados maternos de las ovejas de la raza Dorset, comparativamente a las ovejas Suffolk y Obispo. Así mismo se localizaron marcadores genéticos asociados a la conducta materna apoyan la hipótesis que las respuestas conductuales maternas están reguladas genéticamente en ovinos Dorset, Suffolk y Obispo.

Estos resultados guardan relación con lo que sostienen Poindron (2001), Birkhead *et al.*, (2002) Dwyer *et al.*, (2000) donde la raza Dorset tiene una mayor actividad de protección materna, comparada con ovejas de la raza Suffolk. Estos autores sugieren que el efecto de la protección a las crías y la actividad materna podría estar relacionado directamente con la raza de ovinos. Esto concuerda a lo presentado en este estudio. También se observó el comportamiento materno de la raza Obispo, hasta el momento no se tienen datos en la literatura sobre la conducta materna de esta raza en particular. Sin embargo, los resultados obtenidos sugieren que la raza Obispo tiene una conducta materna similar a la raza Suffolk.

En este trabajo el periodo de lactación permitió evaluar de manera directa, sin distractores ambientes la conducta materna y la relación de las hembras con sus crías. Lo que resulto en una manera práctica de evaluar la actividad protectora de la madre a las crías. Que concuerda con trabajos en Poindron (2001) Terrazas *et al.*, (2002) y Dwyer *et al.*, (2000) donde se ha estudiado el comportamiento materno de pequeños rumiantes y la actividad protectora a las crías.

En el presente estudio se hicieron comparaciones de señales olfativas entre las razas Dorset, Suffolk y Obispo, se encontró que la raza Dorset tiene mayor frecuencia de olfateo a las crías comparado con las razas Suffolk y Obispo. Lo que concuerda con estudios en Poindron *et al.*, (1988) y Terrazas *et al.*, (2002) donde se menciona que las señales olfativas podrían desempeñar un papel importante en el desarrollo normal de la relación madre-cría y en la supervivencia, en ovinos.

El trabajo de investigación observo la conducta de acicalamiento con el medio, comparando las 3 razas, señalando que las razas Obispo y Suffolk pasan una gran parte de su tiempo acicalándose con las instalaciones comparado con las madres Dorset. Los resultados sugieren que la raza Dorset se acicala poco o nada con las instalaciones para no alejarse de sus crías. Lo que concuerda con resultados en Dwyer *et al.*, (2000) donde se propone que algunas especies y razas en particular dejan de lado algunas actividades cotidianas a favor de la supervivencia de las crías.

Este trabajo observó el abandono y la convivencia de las madres con sus crías en las razas anteriormente mencionadas. Resultando que las razas Suffolk y Obispo presentan mayor recurrencia a dejar a sus crías por largos periodos de tiempo sin protección o cuidados maternos, comparado con la raza Dorset que basado en los resultados obtenidos se sugiere que presenta una mayor actividad de protección y cuidados maternos a sus crías. Estos resultados se relacionan con lo que sugieren en Poindron (2001), Dwyer *et al.*, (2000), Terrazas *et al.*, (2002) y Ferreira, G *et al.*, (2000) sobre la perdida de pautas de comportamiento en algunas razas ovinas empleadas en crianzas intensivas.

En la presente investigación se observó la distancia genética entre las razas Dorset, Suffolk y Obispo a partir del genotipado. Los Resultados obtenidos proponen que los ovinos de la raza Obispo provienen de un mestizaje que aún no se encuentra completamente identificado. Estos resultados difieren a los resultados en Alonso *et al.*, 2017 y Pedraza *et al.*, (1992) donde se propone que el borrego obispo tenga tal vez su origen de la cruce entre razas Churra y Lacha que fueron introducidas en el sur de México.

Mediante los resultados observados se propone que la distancia genética entre las razas Dorset y Suffolk se podría deber al método de selección, cabe mencionar que esto puede deberse a que la raza Suffolk se ha mantenido en condiciones intensivas, estos resultados se relacionan a lo propuesto en Schena *et al.*, (1995) y en Price *et*

al., (2006), donde se propone que las distancias genéticas en razas de animales pudieran estar basadas en los métodos de crianza.

En este trabajo se identificaron marcadores genéticos asociados a la conducta materna en las 3 razas a partir de un Estudio de Asociación de Genoma Completo (GWAS). Los resultados de este análisis localizaron nueve marcadores tipo SNP que están relacionados directamente con la conducta materna y otros marcadores asociados a diferencias raciales (Anexo 2). Este estudio determinó el grado de asociación de la conducta (Fenotipo) con los SNP (Genotipo). Los resultados obtenidos guardan relación con los estudios en Dehghan (2018), Willer *et al.*, (2008), Ioannidis *et al.*, (2009), vonHoldt *et al.*, (2017), Zapata *et al.*, (2016), Ehret *et al.*, (2010) y Kubinyi *et al.*, (2012), lo cual confirma que los GWAS han servido para el estudio de rasgos complejos en animales de producción.

A partir de los marcadores genéticos identificados se hizo la minería de datos. En este trabajo se localizaron 9 genes que se sospecha están regulando el comportamiento materno, ya que se localizan en eventos neurogénicos importantes como son: desarrollo del tálamo, regulación neuroendocrina, canales neuronales, vías de señalización neuronal y regulación de la actividad materna. Estos resultados son similares a los identificados en Waterhouse *et al.*, (2018), Numan *et al.*, (2006), Khan *et al.*, (2016), Willer *et al.*, (2008) y Zapata *et al.*, (2016)

En este estudio se localizaron los marcadores OAR2_162810404.1, OAR7_31172405.1, que se encuentran involucrados en la regulación neuroendocrina, desarrollo del Tálamo en ovinos, previamente identificados por Meier *et al.*, (2019) y Khan *et al.*, (2016). Así también se identificó el marcador OAR23_59102681.1, que está asociado a la conducta materna en ovinos que fue previamente identificado por Willer *et al.*, (2008). Además, se identificaron seis nuevos marcadores (OAR9_21225274.1, OAR10_23753028.1, OARX_35237878.1, OAR2_89841590.1, OAR3_182984169.1, s26518.1), en los genes (Gen TG, PSRC1, RHO, SH3GL2, YWHAQ, GUK1) que se sugiere tiene una implicación directa con el desarrollo de tejidos de la cresta neural y en actividad neurofisiológica.

En los trabajos Meier *et al.*, (2019) Willer *et al.*, (2008) comentan que mutaciones puntuales en los genes *ZEB2*, *C15orf62*, *MC4R* se encuentran regulando factores neuroendocrinos y desarrollo de tejido nervioso pudieran estar involucradas con una actividad materna baja, dado que estos genes están directamente involucrados con aspectos regulatorios de la actividad neuronal. Estos estudios guardan relación con lo identificado en este trabajo de investigación.

Trabajos en Barrett *et al.*, (2005) señalan que los marcadores tipo SNP se pueden emplear en formar haplotipos, con la finalidad de localizar marcadores cercanos y explorar un gen determinado. Resultados de esta investigación no presentan forma de haplotipo. Los SNP localizados en este trabajo muestran un comportamiento homocigótico en las razas Suffolk y Dorset, lo que nos hace pensar que el cambio de nucleótido estaría directamente relacionado con la actividad del gen donde se localizó el marcador. Respectivamente la raza Obispo presenta sus SNP de forma heterocigótica, hasta el momento no se tienen referencias en la literatura científica de este fenómeno, en este trabajo pensamos que estos SNP podrían jugar un papel importante regulando la actividad neuronal en esta raza Obispo.

Estudios en Grant *et al.*, (2010) proponen pruebas epigenéticas para evaluar las diferencias conductuales y la supervivencia de las crías, sus estudios siguieron que el efecto de la crianza, protección y cuidados maternos está sujeto a efectos epigenéticos, sin embargo, no lograron encontrar sitios de metilación particulares o relacionados con sus hipótesis planteadas. Por lo que no concuerda el estudio de los autores referidos con este trabajo.

Estudios de Poindron *et al.*, (2007) mencionan que la naturaleza de los factores del cuidado materno puede variar entre las especies, sin embargo, señala que el estradiol y la oxitocina podrían estar relacionados con la protección materna. En este estudio se encontraron genes relacionados directamente con el desarrollo del sistema nervioso central y de canales neuronales (Tálamo/Hipofisarios), donde sus vías de señalización convergen con los genes que sintetizan oxitocina, estradiol y

sus precursores neuronales, se sugiere que esto podría estar vinculado con lo descrito por el autor.

Estudios de vonHoldt *et al.*, (2017) señalan que las variantes de comportamiento están relacionadas con el componente genético en los animales domésticos y silvestres, proponen que los estudios conductuales podrían ser evaluados mediante métodos de exploración genética, con la finalidad de buscar variantes relacionadas a rasgos complejos y de conducta. Estos estudios tienen una estrecha relación con lo identificado en este trabajo de investigación.

Finalmente, para concluir, en este estudio se pudieron evaluar y comparar las diferencias conductuales entre la raza Dorset, Suffolk y Obispo. Se sugiere usar herramientas conductuales para caracterizar y seleccionar animales con mayor actividad materna. Las pruebas actuales se encuentran bien definidas y ayudan a evaluar la motivación materna, por tal motivo proponemos que es muy importante el empleo de estas herramientas para asegurar la sobrevivencia de las crías en la etapa de lactación y destete.

También se localizaron los marcadores genéticos asociados al desarrollo del tálamo y factores neuroendocrinos, a su vez se sugiere que las mutaciones en estos marcadores provocan una actividad materna baja, la presencia de estas mutaciones se localiza en los individuos de menor actividad materna. Se sugiere que los marcadores encontrados están involucrados de manera directa con la conducta materna en ovinos, lo que nos permitirá eventualmente evaluar la actividad materna usando estos marcadores genéticos de los ovinos.

7 REFERENCIAS

- Alonso, R. A., Ulloa-Arvizu, R., Gayosso-Vázquez, A. (2017). Mitochondrial DNA sequence analysis of the Mexican Creole sheep (*Ovis aries*) reveals a narrow Iberian maternal origin. *Mitochondrial DNA Part A*, 28(6), 793–800.
- Barrett, J. C., Fry, B., Maller, J., Daly, M. J. (2004). Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics*, 21(2), 263–265.
- Birkhead, T.R. & Pizzari, T. (2002) Postcopulatory sexual selection. *Nature Reviews Genetics*, 3 (4). pp. 262-273.
- Capitan, A., Allais-Bonnet, A., Pinton, A., Marquant-Le Guienne, B., Le Bourhis, D., Grohs, C., ... Pailhoux, E. (2012). A 3.7 Mb Deletion Encompassing ZEB2 Causes a Novel Polled and Multisystemic Syndrome in the Progeny of a Somatic Mosaic Bull. *PLoS ONE*, 7(11), e49084. doi:10.1371/journal.pone.0049084
- Dehghan, A. (2018) Genome-Wide Association Studies. In: Evangelou E. (eds) *Genetic Epidemiology. Methods in Molecular Biology*, vol 1793. Humana Press, New York, NY
- Dwyer, C & Lawrence, A. (2000). Maternal behaviour in domestic sheep (*ovis aries*): constancy and change with maternal experience. *Behaviour* 137, 1391-1413.
- Dwyer, C & Lawrence, A. (1998). Variability in the expression of maternal behaviour in primiparous sheep: Effects of genotype and litter size. *Applied Animal Behaviour Science*, 58(3-4), 311–330.
- Dwyer, C. M. (2008). Genetic and physiological determinants of maternal behavior and lamb survival: implications for low-input sheep management. *Journal of Animal Science*, 86(14 Suppl), E246-258.

Ehret, G. B. (2010). Genome-Wide Association Studies: Contribution of Genomics to Understanding Blood Pressure and Essential Hypertension. *Current Hypertension Reports*, 12(1), 17–25.

Febles Rodríguez., Juan Pedro., González Pérez, Abel. (2002). Aplicación de la minería de datos en la bioinformática. *ACIMED*, 10(2), 69-76.

Feero, W. G., Guttmacher, A. E., Collins, F. S. (2010). Genomic Medicine — An Updated Primer. *New England Journal of Medicine*, 362(21), 2001–2011. doi:10.1056/nejmra0907175

Ferreira, G., Terrazas, A., Poindron, P., Nowak, R., Orgeur, P., & Lévy, F. (2000). Learning of olfactory cues is not necessary for early lamb recognition by the mother. *Physiology and Behavior*, 69(4-5), 405-412.

Fitzgibbon, J., Katsanis, N., Wells, D., Delhanty, J., Vallins, W., Hunt, D. M. (1996). Human guanylate kinase (GUK1): cDNA sequence, expression and chromosomal localisation. *FEBS Letters*, 385(3), 185–188.

Giachino, C., Lantelme, E., Lanzetti, L., Saccone, S., Valle, G. D., & Migone, N. (1997). A Novel SH3-Containing Human Gene Family Preferentially Expressed in the Central Nervous System. *Genomics*, 41(3), 427–434.

Grant, V. J., & Chamley, L. W. (2010). Can mammalian mothers influence the sex of their offspring peri-conceptually?. *Reproduction*, 140(3), 425–433.

Heck, M., Schädel, S. A., Maretzki, D., Bartl, F. J., Ritter, E., Palczewski, K., Hofmann, K. P. (2002). Signaling states of rhodopsin. Formation of the storage form, metarhodopsin III, from active metarhodopsin II. *The Journal of biological chemistry*, 278(5)

Hejjas, K., Vas, J., Topal, J., Szantai, E., Ronai, Z., Szekely, A., ... Miklosi, A. (2007). Association of polymorphisms in the dopamine D4 receptor gene and the activity-impulsivity endophenotype in dogs. *Animal Genetics*, 38(6), 629–633.

Ioannidis, J. P. A., Thomas, G., Daly, M. J. (2009). Validating, augmenting and refining genome-wide association signals. *Nature Reviews Genetics*, 10(5), 318–329. doi:10.1038/nrg2544

Katta, S., Kaur, I., Chakrabarti, S. (2009). The molecular genetic basis of age-related macular degeneration: an overview. *Journal of Genetics*, 88(4), 425–449.

Khan, R. A. W., Chen, J., Wang, M., Li, Z., Shen, J., Wen, Z., ... Shi, Y. (2016). A new risk locus in the ZEB2 gene for schizophrenia in the Han Chinese population. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 66, 97–103

Keller, M., Meurisse, M., Lévy, F. (2005). Mapping of brain networks involved in consolidation of lamb recognition memory. *Neuroscience*, 133(2), 359–369.

Kubinyi, E., Vas, J., Hejjas, K., Ronai, Z., Brúder, I., Turcsán, B., ... Miklósi, A. (2012). Polymorphism in the tyrosine hydroxylase (TH) gene is associated with activity-impulsivity in German Shepherd Dogs. *PloS one*, 7(1), e30271.

Klinedinst, N. J., Resnick, B., Yerges-Armstrong, L. M., & Dorsey, S. G. (2015). The Interplay of Genetics, Behavior, and Pain with Depressive Symptoms in the Elderly. *The Gerontologist*, 55(Suppl 1), S67–S77.

Malaspina, A., Kaushik, N., Bellerocche, J (2008). A 14-3-3 mRNA Is Up-Regulated in Amyotrophic Lateral Sclerosis Spinal Cord. *Journal of Neurochemistry*, 75(6), 2511–2520

Mattei J, Sáez G, Chao C, Vázquez, D, Rodríguez R (2002). El genoma humano (Ethical eye: the human genome). Colección La Mirada de la Ciencia. Madrid: Council of Europe/Editorial Complutense. Glosario (p. 201). ISBN 84-7491-665-8

Manolio, T. A. (2010). Genomewide Association Studies and Assessment of the Risk of Disease. *New England Journal of Medicine*, 363(2), 166–176.

Martínez-Rojero, Rubén, Mejía-Villanueva, Octavio, Zarco-Quintero, Luis, Mastache-Lagunas, Agustín, & Reyna-Santamaría, Lorenzo. (2017). Evaluación de un protocolo de superovulación para transferencia de embriones en ovejas Criollas de la Montaña de Guerrero. *Abanico veterinario*, 7(3), 30-36

Meier, S., Als, T., Pedersen, M., Mortensen, P. B., Hougaard, D., Werge, T., ... Mors, O. (2019). Genome-wide association study of anxiety and stress-related disorders. *European Neuropsychopharmacology*, 29, S819–S820.

McCarthy, M. I., Abecasis, G. R., Cardon, L. R., Goldstein, D. B., Little, J., Ioannidis, J. P. A., Hirschhorn, J. N. (2008). Genome-wide association studies for complex traits: consensus, uncertainty and challenges. *Nature Reviews Genetics*, 9(5), 356–369.

Nelson, N. C. (2015). A Knockout Experiment: Disciplinary Divides and Experimental Skill in Animal Behaviour Genetics. *Medical history*, 59(3), 465–485. doi:10.1017/mdh.2015.30

Nowak, R., Poindron, P., Le Neindre, P., Putu, I. G. (1987). Ability of 12-hour-old merino and crossbred lambs to recognise their mothers. *Applied Animal Behaviour Science*, 17(3-4), 263-271

Numan, M., Fleming, A.S., Levy, F. (2006) Maternal Behavior. In: Knobil, J.D. and Neill, N., Eds., *Physiology of Reproduction*, Academic Press, New York, 1921-1993

O'Leary, N.A., Wright MW., Brister, J.R., Ciuffo S., Haddad D., McVeigh R., Rajput B., Robbertse, B., Smith-White, B., Ako-Adjei, D., Astashyn, A., Badretdin, A., Bao, Y., Blinkova, O., Brover, V., Chetvernin, V., Choi, J., Cox, E., Ermolaeva, O., Farrell, C.M., Goldfarb, T, Gupta, T, Haft, D, Hatcher, E., Pruitt, K.D. (2016) Reference sequence (RefSeq) database at NCBI: current status, taxonomic expansion, and functional annotation. *Nucleic Acids Res.* Jan 4;44(D1):D733-45. doi: 10.1093/nar/gkv1189. Epub 2015 Nov 8. PubMed PMID: 26553804; PubMed Central PMCID: PMC4702849.

Organismo de la Unidad Nacional de Ovinocultores (2019): Melchor Ocampo. No. 405-202, Col. Nueva Anzures, México, CDMX., Revista virtual "UNO". http://www.uno.org.mx/razas_ovinas/dorset.html

Pardo, V., Vono-Toniolo, J., Rubio, I. G. S., Knobel, M., Possato, R. F., Targovnik, H, Medeiros-Neto, G. (2009). The p.A2215D Thyroglobulin Gene Mutation Leads to Deficient Synthesis and Secretion of the Mutated Protein and Congenital Hypothyroidism with Wide Phenotype Variation. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 94(8), 2938–2944. doi:10.1210/jc.2009-0150

Parker, H. G., Shearin, A. L., Ostrander, E. A. (2010). Man's Best Friend Becomes Biology's Best in Show: Genome Analyses in the Domestic Dog. *Annual Review of Genetics*, 44(1), 309–336.

Pedrosa, S., Arranz, J. J., Brito, N., Molina, A., San Primitivo, F., Bayón, Y. (2007). Mitochondrial diversity and the origin of Iberian sheep. *Genetics, selection, evolution : GSE*, 39(1), 91–103.

Pedraza, P., Peralta, M., Perezgrovas, R. (1992). Chiapas sheep: a Mexican local breed of Spanish origin. *Arch Zootec.* 41:355–362.

Perrin, G., Meurisse, M., Lévy F. (2007). Inactivation of the medial preoptic area or the bed nucleus of the stria terminalis differentially disrupts maternal behavior in sheep. *Hormones and Behavior*, 52(4), 461-473.

Prato, E, Custance D, Spiezio C, Sabatini F (2003). Is the dog–human relationship an attachment bond? An observational study using Ainsworth’s strange situation. *Behaviour* 140: 225–254.

Poindron, P. (2001). El control fisiológico de la conducta materna al momento del parto en ovinos y caprinos. En: VELÁZQUEZ MJ, editor. *Biología de la reproducción II*. México, D F: Universidad Autónoma Metropolitana–Programa Universitario de Investigación en Salud:301–323.

Poindron, P. (2005). Mechanisms of activation of maternal behaviour in mammals. *Reproduction Nutrition Development*, EDP Sciences, 45 (3), pp.341-351.

Poindron, P.& Le Neindre, P. (1980). Endocrine and sensory regulation of maternal behavior in the ewe. *Advances in the Study of Behavior*, 11, 75-119.

Poindron, P., Lévy, F., Krehbiel, D. (1988). Genital, Olfactory, and Endocrine Interactions in the Development of Maternal Behaviour in the Parturient Ewe. *Psychoneuroendocrinology* 99-125.

Poindron, P., Levy, F., Keller, M. (2007). Maternal responsiveness and maternal selectivity in domestic sheep and goats: the two facets of maternal attachment. *Developmental Psychobiology*, 49(1), 54-70.

Price, A. L., Patterson, N. J., Plenge, R. M., Weinblatt, M. E., Shadick, N. A., & Reich, D. (2006). Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies. *Nature Genetics*, 38(8), 904–909.

Pruitt, K. D., Brown, G. R., Hiatt, S. M., Thibaud-Nissen, F., Astashyn, A., Ermolaeva, O., ... Ostell, J. M. (2013). RefSeq: an update on mammalian reference sequences. *Nucleic acids research*, 42(Database issue), D756–D763.

Ramírez, M., Miriam, G., Soto, G., Poindron P, Álvarez Ramírez, Lorenzo, Valencia M, Terrazas M. (2011). Comportamiento maternal alrededor del parto y reconocimiento madre-cría en ovinos Pelibuey. *Veterinaria México*, 42(1), 11-25.

Ramírez, J., Gilberto, V., Carlos, T., & José, M. (2013). Polimorfismos de un solo nucleótido (SNP): implicaciones funcionales de los SNP reguladores (rSNP) y de los SNP-ARN estructural (srSNP) en enfermedades complejas, *Gaceta Médica de México* .149-220

Schena, M., Shalon, D., Davis, R. W., & Brown, P. O. (1995). Quantitative Monitoring of Gene Expression Patterns with a Complementary DNA Microarray. *Science*, 270(5235), 467–470.

Shillito Walser, E. (1980). Maternal recognition and breed identity in lambs living in a mixed flock of Jacob, Clun Forest and Dalesbred sheep. *Applied Animal Ethology*, 6(3), 221–231.

Siegel, S & Castellan, J. (1988). *Non parametric statistics for the behavioral sciences*. 2nd ed.. México DF: McGraw–Hill Interamericana.

Steven Ward, W., & Coffey, D. S. (1991). DNA Packaging and Organization in Mammalian Spermatozoa: Comparison with Somatic Cell. *Biology of Reproduction*, 44(4), 569–574.

Terrazas, A., Ferreira, G., Lévy, F., Nowak, R., Serafin, N., Orgeur, P, Poindron, P. (1999). Do ewes recognize their lambs within the first day postpartum without the help of olfactory cues? *Behavioural Processes*, 47(1), 19 - 29.

Terrazas, A., Nowak, R., Serafin, N., Ferreira, G., Levy, F., Poindron, P. (2002). Twenty-four-hour-old lambs rely more on maternal behavior than on the learning of individual characteristics to discriminate between their own and an alien mother. *Developmental Psychobiology*, 40(4), 408-418.

Ulloa-Arvizu, R., Gayosso-Vázquez, A., Alonso, R.A. (2009). Determining the genetic origin of mexican creole sheep (*ovis aries*) by cytochrome c oxidase subunit i gene analysis. *tec pec mex*. 47:323–328.

vonHoldt, B. M., Shuldiner, E., Koch, I. J., Kartzinel, R. Y., Hogan, A., Brubaker, L., ... Udell, M. A. R. (2017). Structural variants in genes associated with human Williams-Beuren syndrome underlie stereotypical hypersociability in domestic dogs. *Science Advances*, 3(7), e1700398.

Wang, L. J., Wu, Z. H., Zheng, X. T., Long, J. Y., Dong, Y. M., & Fang, X. (2017). Zinc Finger E-Box Binding Protein 2 (ZEB2) Suppress Apoptosis of Vascular Endothelial Cells Induced by High Glucose Through Mitogen-Activated Protein Kinases (MAPK) Pathway Activation. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 23, 2590–2598. doi:10.12659/MSM.904678

Waterhouse, A., Bertoni, M., Bienert, S., Studer, G., Tauriello, G., Gumienny, R., Heer, F.T., de Beer, T.A.P., Rempfer, C., Bordoli, L., Lepore, R., Schwede, T. (2018). SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. *Nucleic Acids Res*. 46(W1), W296-W303

Willer, C. J., Speliotes, E. K., Loos, R. J., Li, S., Lindgren, C. M., Heid, I. M *et al* ., (2008). Genetic Investigation of ANthropometric Traits Consortium Six new loci associated with body mass index highlight a neuronal influence on body weight regulation. *Nature genetics*, 41(1), 25–34. doi:10.1038/ng.287

Yela, M. (1996). Comportamiento animal y conducta humana. *Psicothema*, 8 (Sup), 149-163.

Zapata, I., Serpell, J. A., Alvarez, C. E. (2016). Genetic mapping of canine fear and aggression. *BMC Genomics*, 17(1). doi:10.1186/s12864-016-2936-3

Zhang, L., Shao, H., Zhu, T., Xia, P., Wang, Z., Liu, L., ... Yao, X. (2013). DDA3 associates with microtubule plus ends and orchestrates microtubule dynamics and directional cell migration. *Scientific Reports*, 3(1).

8. ABREVIATURAS

Palabras clave:

- *SNP Polimorfismos de un solo nucleótido
- *GWAS Asociación de genoma completo
- *CHR es cromosoma
- BP es localización del SNP (pares de bases)
- A1 alelo 1
- FA Alelo menor
- FU Alelo mayor
- A2 alelo 2
- *CHISQ Chi cuadrado
- *P *p-value*
- *Or Odds ratio
- *PCA Análisis de componentes principales

Definiciones importantes:

Bonferroni (*BF). El Test de Bonferroni es un test de comparaciones múltiples. Permite comparar, como los demás contrastes de este tipo, las medias de los t niveles de un factor después de haber rechazado la Hipótesis nula de igualdad de medias mediante la técnica ANOVA

Nota: *Acrónimo y término validado por la “*Real Academia de la Lengua Española 2019*” ©. Recuperado de <http://www.rae.es/>

8 ANEXOS

9.1 Anexo 1.

Plantillas de las hojas de registro del análisis de las pautas de conducta.

Fecha:

Hora:

Lugar:

Hora	Corral/Individuo	Conducta	Hora	Corral/individuo	Conducta

Fecha:

Hora:

Lugar:

Hora	Corral/Individuo	Conducta	Hora	Corral/individuo	Conducta

9.2 Anexo 2.

Cuadro anexo de los Marcadores tipo SNP que presentaron asociación significativa ajustada por el test de múltiples pruebas.

CHR	SNP	<i>p-value</i>	BF
3	OAR3_182984169.1	1.213e-07	0.006
7	OAR7_31172405.1	1.213e-07	0.006
2	OAR2_162810404.1	1.213e-07	0.006
10	OAR10_23753028.1	1.213e-07	0.006
5	s26518.1	1.213e-07	0.006
23	OARX_35237878.1	1.213e-07	0.006
23	OAR23_59102681.1	1.213e-07	0.006
9	OAR9_21225274.1	1.213e-07	0.006
2	OAR2_89841590.1	1.213e-07	0.006
21	s22278.1	8.388e-07	0.038
23	OARX_119762219.1	8.388e-07	0.038
2	OAR2_70055012.1	8.388e-07	0.038
17	OAR17_42369817.1	8.388e-07	0.038
15	OAR15_14183846.1	8.388e-07	0.038
6	OAR6_90837285.1	8.388e-07	0.038
7	OAR7_96641220.1	8.388e-07	0.038
10	s18980.1	8.388e-07	0.038
12	s03973.1	8.388e-07	0.038
13	s08503.1	8.388e-07	0.038
7	OAR7_43256001.1	8.388e-07	0.038
2	OAR2_70530060.1	8.388e-07	0.038
4	s43449.1	8.388e-07	0.038
22	OAR22_22352463.1	8.388e-07	0.038
13	OAR13_39733056.1	8.388e-07	0.038
13	OAR13_20794657.1	8.388e-07	0.038
19	s04870.1	8.388e-07	0.038
3	OAR3_180711543.1	8.388e-07	0.038
2	OAR2_80768977.1	8.388e-07	0.038
11	OAR11_34676905.1	8.388e-07	0.038
16	OAR16_36249607.1	8.388e-07	0.038
6	OAR6_90768015.1	8.388e-07	0.038
2	OAR2_63296884.1	8.388e-07	0.038
19	OAR19_37014050.1	8.388e-07	0.038
2	OAR2_63412662.1	8.388e-07	0.038
2	OAR2_140726913.1	8.388e-07	0.038
4	OAR4_83662867.1	8.388e-07	0.038
2	OAR2_183604993.1	8.388e-07	0.038
13	s43445.1	8.388e-07	0.038
13	OAR13_42332039.1	8.388e-07	0.038
5	OAR5_67152147.1	8.388e-07	0.038
1	OAR1_19651513.1	8.388e-07	0.038
2	s50112.1	8.388e-07	0.038

4	s15079.1	8.388e-07	0.038
10	OAR10_41376168.1	8.388e-07	0.038
23	s75775.1	8.388e-07	0.038
3	OAR3_136445195.1	8.388e-07	0.038
15	OAR15_15249307.1	8.388e-07	0.038
17	s36178.1	8.388e-07	0.038
19	OAR19_19633578.1	8.388e-07	0.038
4	OAR4_122950117.1	8.388e-07	0.038
10	OAR10_55594313.1	8.388e-07	0.038
2	OAR2_11335009.1	8.388e-07	0.038
19	OAR19_33605872.1	8.388e-07	0.038
13	OAR13_37048579.1	8.388e-07	0.038
6	OAR6_44267805_X.1	8.388e-07	0.038
15	s25541.1	8.388e-07	0.038
3	OAR3_160874701.1	8.388e-07	0.038
13	OAR13_37625153_X.1	8.388e-07	0.038
1	OAR1_142695228.1	8.388e-07	0.038
8	s48512.1	8.388e-07	0.038
2	OAR2_56753503.1	8.388e-07	0.038
2	OAR2_32828258.1	8.388e-07	0.038
3	OAR3_160869216.1	8.388e-07	0.038
11	OAR11_32935699.1	8.388e-07	0.038
1	s17123.1	8.388e-07	0.038