



**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA**

**FACULTAD DE VETERINARIA**

**Programa de Posgrados**

**DETERMINACIÓN DE LA ESTRUCTURA GENÉTICA Y GRADO DE  
ENDOGAMIA DE LOS OVINOS CRIOLLOS DEL PARQUE NACIONAL  
DE SAN MIGUEL EN BASE A INFORMACIÓN GENÓMICA**

**DMV. FLORENCIA PIERUCCIONI BANCHERO**

**TESIS DE MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN ANIMAL**

**URUGUAY  
2018**



**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA**

**FACULTAD DE VETERINARIA**

**Programa de Posgrados**

**DETERMINACIÓN DE LA ESTRUCTURA GENÉTICA Y GRADO DE  
ENDOGAMIA DE LOS OVINOS CRIOLLOS DEL PARQUE NACIONAL  
DE SAN MIGUEL EN BASE A INFORMACIÓN GENÓMICA.**

**DMV. FLORENCIA PIERUCCIONI BANCHERO**

PhD. Elly Ana Navajas  
**Director de Tesis**

PhD. Gabriel Ciappesoni  
**Co-director**

**2018**



## **ACTA DE DEFENSA DE TESIS**

## AGRADECIMIENTOS

A mi tutora, Elly Navajas por darme la oportunidad de realizar este proyecto de investigación, por su paciencia, confianza, cariño y la enseñanza del día a día.

A mi cotutor, Gabriel Ciappesoni por su orientación y enseñanzas.

Especialmente a Fernando Macedo no sólo por sus aportes en esta tesis sino por todo lo que me ha enseñado durante este camino.

A todos los integrantes del área de biotecnología de INIA Las Brujas por ser parte de mí día a día, me llevo grandes amigos.

A Beatriz Villanueva, María Saura y a todo el equipo de INIA Madrid, por recibirme, apoyarme, enseñarme, darme sostén en todo momento, grandes tanto en lo profesional como en lo humano, van a estar siempre en mi recuerdo.

A todo el personal del Parque Nacional de San Miguel por el apoyo en los trabajos de campo.

A la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII) por financiar la beca de maestría (POS\_NAC\_2013\_1\_11938).

A mis padres, Cristina y Bruno por haberme dado amor, comprensión, apoyo en todo lo que he emprendido, brindándome todas las oportunidades para desarrollarme tanto en lo personal como en lo profesional; a mi hermana Agus con la que sé que cuento de manera incondicional.

A toda mi familia, en especial a mis abuelos, Pichín y Milka, por estar siempre y darme esa palabra justa para seguir adelante y sobretodo enseñarme a valorar la vida.

¡MUCHAS GRACIAS!

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

|  |             |
|--|-------------|
| ÍNDICE DE CONTENIDOS   | ii          |
| ÍNDICE DE CUADROS  | iii         |
| ÍNDICE DE FIGURAS  | iv          |
| <b>RESUMEN</b>   | <b>vi</b>   |
| <b>SUMMARY</b>   | <b>viii</b> |
| <b>1. INTRODUCCIÓN</b>   | <b>1</b>    |
| <b>2. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS</b>                                     | <b>2</b>    |
| 2.1. Producción ovina en Uruguay                                       | 2           |
| 2.2. Recursos zoogenéticos   | 2           |
| 2.3. Ovinos Criollos en Uruguay  | 3           |
| i) Introducción a América del Sur - Uruguay                            | 4           |
| ii) Caracterización morfológica  | 5           |
| (1) Parámetros biométricos   | 5           |
| iii) Caracterización productiva  | 7           |
| <b>3. Variabilidad genética</b>  | <b>8</b>    |
| 3.1 Heterocigosidad observada y esperada                               | 9           |
| 3.2 Desequilibrio de ligamiento  | 10          |
| 3.3 Tamaño efectivo  | 11          |
| 3.3.1 Estimación del tamaño efectivo                                   | 11          |
| 3.4 Coascendencia molecular  | 12          |
| 3.5 Consanguinidad molecular   | 12          |
| 3.5.1 Consanguinidad molecular ( $F_{SNP}$ )                           | 13          |
| 3.5.2 Consanguinidad molecular basada en tramos de homocigosidad (ROH) | 13          |
| <b>4. Estimaciones obtenidas por diferentes autores</b>                | <b>14</b>   |
| <b>5. CARACTERIZACIÓN DEL PROBLEMA</b>                                 | <b>20</b>   |
| <b>6. HIPÓTESIS</b>  | <b>20</b>   |
| <b>7. OBJETIVOS</b>  | <b>21</b>   |
| 7.1. Objetivo general  | 21          |
| 7.2. Objetivos específicos:  | 21          |
| <b>8. ESTRATEGIAS DE LA INVESTIGACIÓN</b>                              | <b>21</b>   |
| 8.1. Presentaciones orales:  | 22          |
| 8.2. Presentaciones modalidad póster:                                  | 23          |
| <b>9. Diversidad genómica en los ovinos Criollos uruguayos</b>         | <b>24</b>   |
| 9.1. Introducción  | 24          |

|            |   |           |
|------------|---|-----------|
| 9.2.       | Material y métodos _____  | 25        |
| 9.3.       | Resultados _____  | 28        |
| 9.4.       | Discusión _____   | 32        |
| 9.5.       | Conclusiones _____  | 36        |
| 9.6.       | Bibliografía _____  | 36        |
| <b>10.</b> | <b><i>Comparación de razas ovinas comerciales y criollas a través de tramos de homocigosidad determinados con dos paneles de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) de densidades diferentes</i></b> _____ | <b>42</b> |
| 10.1.      | Introducción _____  | 42        |
| 10.2.      | Materiales y métodos _____  | 43        |
| 10.3.      | Resultados _____  | 45        |
| 10.4.      | Discusión _____   | 50        |
| 10.5.      | Conclusiones _____  | 54        |
| 10.6.      | Bibliografía _____  | 55        |
| <b>11.</b> | <b><i>DISCUSIÓN GENERAL</i></b> _____   | <b>58</b> |
| <b>12.</b> | <b><i>CONCLUSIONES GENERALES</i></b> _____  | <b>60</b> |
| <b>13.</b> | <b><i>BIBLIOGRAFÍA</i></b> _____  | <b>61</b> |

### ÍNDICE DE CUADROS

|             |   |    |
|-------------|---|----|
| Cuadro I.   | Parámetros biométricos en los ovinos Criollos.....  | 5  |
| Cuadro II.  | Promedio de huevo por gramo de materia fecal por categoría, sexo y los totales (* sólo carneros) .....                          | 7  |
| Cuadro III. | Mediana de huevo por gramo de materia fecal por categoría, sexo y los totales (* sólo carneros) .....                           | 7  |
| Cuadro IV.  | Resumen de parámetros estimados en diferentes razas obtenidos por diversos autores.....   | 16 |
| Cuadro V.   | Número y porcentaje de SNP para las diferentes categorías de MAF en los ovinos Criollos del Parque Nacional de San Miguel ..... | 28 |
| Cuadro VI.  | Heterocigosidad observada (Ho) y esperada (He) en los ovinos Criollos y en las razas comerciales .....                          | 29 |
| Cuadro VII. | Coascendencia ( $f_{SNP}$ ) y consanguinidad ( $F_{SNP}$ ) molecular en Criollos, Corriedale y Merino .....                     | 29 |

|   |    |
|---|----|
| Cuadro VIII. Desequilibrio de ligamiento promedio ( $r^2$ ) promedio y para diferentes distancias (Mb) por cromosoma.....   | 30 |
| Cuadro IX. Criterios utilizados para la identificación de los ROH para el panel de 50K y 606K SNP .....   | 44 |
| Cuadro X. Número de SNP con genotipos heterocigotos (Nhet) y con genotipos faltantes (Nfal) permitidos en un ROH según la longitud mínima del ROH para ambos paneles de SNP.....          | 44 |
| Cuadro XI. Proporción de ROH de diferentes longitudes para las tres razas .....   | 48 |
| Cuadro XII. Coeficientes de consanguinidad basados en ROH totales ( $F_{ROH}$ ), cortos ( $F_{ROH_c}$ ) y largos ( $F_{ROH_l}$ ) en las tres razas.....                                   | 48 |
| Cuadro XIII. Coeficiente de correlación entre los diferentes coeficientes de consanguinidad estimados utilizando los dos paneles de SNP en los ovinos Criollos, Corriedale y Merino ..... | 50 |

### ÍNDICE DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| Figura 1. Oveja Criolla de vellón oscuro, mocha, extremidades descubiertas y finas. 6  | 6  |
| Figura 2. Oveja Criolla con cordero al pie.....  | 6  |
| Figura 3. Macho Criollo con dos pares de cuernos.....  | 7  |
| Figura 4. Distribución de los partos por meses desde el 2013 al 2015 .....   | 8  |
| Figura 5. Desequilibrio de ligamiento promedio ( $r^2$ ) para todos los cromosomas en función de la distancia física (Mb) entre marcadores .....                       | 30 |
| Figura 6. Evolución del tamaño efectivo ( $N_e$ ) a lo largo de la historia de la población .....  | 32 |
| Figura 7. Número de ROH según la longitud mínima para identificar ROH para las tres razas con los dos paneles de SNP.....  | 46 |
| Figura 8. Coeficiente de consanguinidad basado en ROH ( $F_{ROH}$ ) según la longitud mínima para identificar ROH para las tres razas con los dos paneles de SNP ..... | 47 |
| Figura 9. Número de ROH de diferentes longitudes para las tres razas considerando la longitud mínima de 2 Mb .....   | 47 |
| Figura 10. Número de ROH de diferentes longitudes para las tres razas considerando la longitud mínima de 2 Mb .....  | 49 |



Figura 11. Coeficiente de consanguinidad basado en ROH ( $F_{ROH}$ ) en las tres razas. 49

## RESUMEN

Los avances en genómica en los últimos años han llevado al desarrollo de paneles densos de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) que generan nuevas oportunidades para la investigación de la dinámica genética de las poblaciones. En este estudio se ha utilizado el panel de 606K SNP (AgResearch) (Panel 606K) para caracterizar genéticamente a un recurso zoogenético localizado en Uruguay, los ovinos Criollos, los cuales se encuentran clasificados en riesgo de extinción. Los objetivos del presente trabajo fueron, estudiar los niveles de diversidad genética, calcular la coascendencia y consanguinidad molecular (SNP-por-SNP y según los tramos de homocigosidad), determinar los patrones de desequilibrio de ligamiento y estimar el tamaño efectivo a partir dichos patrones en los ovinos Criollos. Además, con el objetivo de comparar los resultados de estos ovinos con el de dos razas comerciales (Corriedale y Merino), se evaluó la diversidad genética, la coascendencia y consanguinidad molecular utilizando los SNP comunes entre el panel de SNP de 50K y 606K (Panel 50/606K). Después del control de calidad, se disponía de 171 muestras de ovinos Criollos, 107 ovinos Corriedale y 104 ovinos Merino, y 561.777 SNP (Panel 606K) y 41.460 SNP (Panel 50/606K). La diversidad genética fue medida a través de la heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) y observada ( $H_o$ ). Las mismas presentaron valores bajos, siendo los ovinos Criollos ( $H_o$ : 0,282;  $H_e$ : 0,276) los que tuvieron menores valores al compararlas con las razas Corriedale ( $H_o$ : 0,359;  $H_e$ : 0,360) y Merino ( $H_o$ : 0,370;  $H_e$ : 0,368), lo que se corresponde con los mayores valores de coascendencia (0,723) y consanguinidad molecular ( $F_{SNP}$ ) (0,718) obtenidos en estos ovinos. Al evaluar los resultados de los tramos de homocigosidad, el coeficiente de consanguinidad basado en ROH ( $F_{ROH}$ ) en los ovinos Criollos con el Panel 50/606K en el que se utilizaron los mismos criterios para la identificación de los ROH que en las razas comerciales, fue mayor en los Criollos. El  $F_{ROH}$  promedio para los tramos largos fue mayor que  $F_{ROH}$  para los tramos cortos en Criollos (utilizando ambos paneles de SNP) y en Corriedale. En el caso de la raza Merino el  $F_{ROH}$  promedio fue igual para largos y cortos. Que el  $F_{ROH}$  promedio para los tramos largos fuese mayor sugiere que la mayor consanguinidad es reciente en las poblaciones bajo estudio. Con respecto al  $F_{ROH}$  por cromosoma, los ovinos Criollos presentaron el mayor valor en el cromosoma 6 y la raza Corriedale y Merino en el cromosoma 21 y 22, respectivamente. El desequilibrio de ligamiento, medido como el coeficiente de correlación entre pares de SNP al cuadrado fue de 0,43 para SNP separados a distancias menores de 0,01 Mb. Sin embargo,  $r^2$  disminuyó rápidamente a medida que aumentó la distancia entre los SNP. El  $r^2$  promedio se redujo a la mitad de su valor máximo en los primeros 0,25 Mb y a niveles no sinténicos/basales ( $r^2 = 0,015$ ) a una distancia mayor de 20 Mb. La estimación del tamaño efectivo mostró que el  $N_e$  ha decrecido un 23% desde la generación más lejana hasta la actualidad. La correlación entre los dos coeficientes de consanguinidad molecular estudiados fue alta y positiva. Considerando los resultados obtenidos se puede concluir que la variabilidad genética es reducida en los ovinos Criollos, puesto que se observó un bajo valor de heterocigosidad y altos valores de  $F_{SNP}$  y  $F_{ROH}$ , y de coascendencia molecular. También se evidenció un reducido  $N_e$  y un alto DL. Este es el primer trabajo en el que se investiga el parentesco molecular, la consanguinidad molecular y la magnitud del tamaño efectivo a partir de datos genómicos en los ovinos Criollos. Dicha información es esencial en esta población de

forma de lograr optimizar tanto las estrategias de conservación de los recursos zoogenéticos como las de utilización.

## SUMMARY

Advances in genomics in recent years have led to the development of high-density single nucleotide polymorphisms (SNP) chips opening thus new opportunities for investigating the genetic dynamics of populations. In this study, the 606K SNP panel (AgResearch) (Panel 606K) was used to characterize a genetic resource located in Uruguay, the Creole sheep, which are at risk of extinction. The objectives of this work were: study the levels of genetic diversity, calculate the molecular coancestry and inbreeding (SNP-by-SNP and with the runs of homozygosity), determine the linkage disequilibrium patterns and estimate the effective size in the Creole sheep. In addition, in order to compare the results of these sheep with two commercial breeds (Corriedale and Merino), genetic diversity, molecular coancestry and inbreeding were evaluated using the common SNP between the 50K and 606K SNP panel (Panel 50 / 606K). After quality control, 171 samples of Creole sheep, 107 Corriedale sheep and 104 Merino sheep, and 561777 SNP (Panel 606K) and 41460 SNP (Panel 50 / 606K) were available. The genetic diversity was through the heterozygosity expected ( $H_e$ ) and observed ( $H_o$ ). Creole sheep has lower values ( $H_o$ : 0.282,  $H_e$ : 0.276) when comparing them with Corriedale ( $H_o$ : 0.359,  $H_e$ : 0.360) and Merino ( $H_o$ : 0.370;  $H_e$ : 0.368). This corresponds to the values of coancestry values (0.723) and molecular inbreeding ( $F_{SNP}$ ) (0.718) obtained in Creole sheep. The inbreeding coefficient based on ROH ( $F_{ROH}$ ) in the Creole sheep with the Panel 50 / 606K used the same criteria for the identification of the ROH that in the commercial breeds was greater in the Creoles. The  $F_{ROH}$  means for the long ROH it was greater than  $F_{ROH}$  for the short ROH in Creoles (using both SNP panels) and in Corriedale. In the case of Merino, the  $F_{ROH}$  was the same for long and short. The  $F_{ROH}$  for the larger ROH suggests that the greater inbreeding is recent in the populations under study. Creole sheep presented the highest value of  $F_{ROH}$  on chromosome 6 and the Corriedale and Merino breed on chromosome 21 and 22, respectively. Linkage disequilibrium measured by the squared correlation coefficient between SNP pairs, was 0.43 for separated SNP at distances less than 0.01 Mb. However,  $r^2$  decreased rapidly as the distance between the SNP increased. The average  $r^2$  was reduced to half of its maximum value in the first 0.25 Mb and to non-syntenic / basal levels ( $r^2 = 0.015$ ) at a distance greater than 20 Mb. The estimation of the effective size showed that the  $N_e$  has decreased a 23% from the most distant generation to the present. The correlation between the two molecular inbreeding coefficients studied was high and positive. Considering the results we concluded that the genetic variability is reduced in the Creole sheep, taking into account the low heterozygosity value and the highest values of molecular inbreeding and coancestry. Also, the reduced  $N_e$  and a high DL was evidence. This is the first work in which molecular coancestry and inbreeding and the magnitude of the effective size of genomic data in Creole sheep are investigated. This information is essential for the optimization of the conservation strategies in animal genetic resources such as utilization.

## 1. INTRODUCCIÓN

El rubro ovino mantiene un rol muy importante en el sector agropecuario de nuestro país a nivel económico y social, a pesar de la reducción del stock ovino como consecuencia del crecimiento de otros rubros productivos (Recalde, 2013; Bervejillo, 2016). La competitividad de la producción ovina, que hoy está concentrada en las zonas pastoriles de mejor aptitud (DIEA, 2016), ha estado basada en la capacidad de responder a las señales del mercado nacional e internacional de carne y lana y la eficiencia en los procesos productivos (Montossi et al., 2011).

El mejoramiento genético es una herramienta que contribuye a una mayor eficiencia de producción y a la generación de productos de calidad, acordes con la demanda de los mercados. Existen evaluaciones genéticas de las razas más importantes a nivel nacional, las cuales se han focalizado principalmente en las características de crecimiento y de calidad de lana y canal, recibiendo un menor énfasis las variables relativas a la resistencia genética a enfermedades y reproducción ([www.geneticaovina.com.uy](http://www.geneticaovina.com.uy)).

El ovino Criollo uruguayo es un recurso genético cuya caracterización productiva se inició recientemente, pero que muestra atributos de rusticidad de potencial interés a nivel productivo. Constituye además un recurso valioso para la investigación de las determinantes genéticas de dichas características, con aplicabilidad en las razas y sistemas de producción comerciales.

La diversidad de los recursos zoogenéticos y su conservación son fundamentales tanto para el mejoramiento genético como para actuar frente a posibles cambios ambientales y de mercado (FAO, 2010). Los ovinos Criollos se encuentran en peligro de extinción (FAO, 2010), siendo el rebaño más numeroso el que se encuentra en el Parque Nacional de San Miguel bajo la administración del Servicio de Parques del Ejército. La posibilidad de profundizar la caracterización fenotípica y el estudio de sus determinantes genéticas requiere asegurar la conservación de este recurso.

Los principales objetivos de los programas de conservación son mantener la diversidad genética (Frankham et al., 2002) y controlar la velocidad a la que aumenta la consanguinidad para evitar la pérdida de aptitud biológica como consecuencia de la misma (Toro et al., 2014). Tradicionalmente, los estudios de variabilidad genética se basaron en los registros genealógicos, al igual que las estrategias de conservación. Sin embargo, frente a la disponibilidad de la información molecular ha sido posible la caracterización a través del uso de marcadores moleculares en poblaciones en las cuales no es posible contar con genealogía. Este es el caso de especies silvestres o poblaciones en condiciones muy extensivas, como los ovinos Criollos uruguayos.

La caracterización genética con información molecular en Uruguay se ha realizado en base a microsatélites en varias especies como la bovina (Rincón et al., 2000; Postiglioni et al., 2002; Armstrong et al., 2013), porcina (Montenegro et al., 2015), canina (Llambí et al., 2008), entre otras. En ovinos, Grasso et al. (2014) realizó un primer estudio de variabilidad genética en base al genotipado de alta densidad de polimorfismos de nucleótido simple (SNP), de las razas Corriedale, Merino y ovinos Criollos, pero en este último caso en base a una muestra muy reducida de animales. La

información genómica obtenida de paneles de alta densidad de SNP ha revolucionado la mejora genética animal. También ha generado alternativas nuevas y más precisas para la caracterización de la variabilidad genética a nivel de todo el genoma, las cuales han sido aplicadas en este trabajo en el estudio de los ovinos Criollos.

## **2. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS**

### **2.1. Producción ovina en Uruguay**

La producción ovina ha sido históricamente un rubro de gran importancia económica y social en el país (Montossi, 2006). La misma contribuyó al desarrollo de la industria textil nacional y de la carne ovina, generando una gran cantidad de puestos de trabajo entre la mano de obra familiar y los trabajadores asalariados. Sin embargo, en los últimos años, se ha visto desplazada por el crecimiento de la forestación, la agricultura y también por la ganadería vacuna (Recalde, 2013).

El stock ovino a mediados del año 2016 era de 6,6 millones de lanares, lo que representa una disminución de 1% respecto al año anterior. Esto se atribuye al desalentador momento del sector por la baja rentabilidad del rubro, el alto riesgo por abigeatos y predadores, la falta de mano de obra y la alta mortalidad por las condiciones climáticas del último período. Tanto la producción de carne como la producción de lana se redujeron significativamente, lo que afectó el desempeño de la cadena en su totalidad (Bervejillo, 2016).

Con el objetivo de apoyar la recuperación del rubro se implementó en el año 2008 el Plan Estratégico Nacional del rubro ovino. El mismo se encuentra en la fase II con una vigencia del período 2016-2020, en el cual trabajan en forma conjunta varias instituciones nacionales. Entre sus metas se mencionan la búsqueda de alternativas que lleven al aumento de la competitividad del rubro y de las distintas cadenas que da origen, para beneficio del sector, sus agentes y del país.

Existen actualmente en Uruguay sistemas de evaluación genética poblacionales o intra-rebaño para las razas ovinas con mayor incidencia en el stock ovino ([www.geneticaovina.com.uy](http://www.geneticaovina.com.uy)). Esta es una herramienta que permite un aporte importante al incremento de la eficiencia de producción y calidad de los productos principales de este rubro, como son la lana y la carne. En términos generales, las evaluaciones genéticas incluyen variables relativas al crecimiento, calidad de la canal (medida por ultrasonido), cantidad y calidad de la lana. En menor medida se incorporan aspectos relativos a la resistencia genética a enfermedades (ejemplo: resistencia a parásitos gastrointestinales) o reproducción (ejemplo: proporción de partos múltiples).

### **2.2. Recursos zoogenéticos**

Los recursos zoogenéticos han sido definidos como aquellas especies animales, y las poblaciones dentro de ellas, que se utilizan o pueden utilizarse para la producción de alimentos y en la agricultura. Las poblaciones de cada especie pueden clasificarse como silvestres y salvajes, razas locales y poblaciones primarias, razas normalizadas, líneas selectas, variedades, estirpes y cualquier material genético conservado; en todos los casos se clasifican ahora como razas (FAO, 2001).

La conservación de los recursos zoogenéticos es una de las líneas estratégicas definidas a nivel mundial para enfrentar las demandas crecientes de alimento en base a sistemas de producción sustentables (FAO, 2007). La conservación se fundamenta por sus propios valores genéticos, socioeconómicos, culturales, históricos y ecológicos, debido a su adaptación e integración a las circunstancias locales actuales (Delgado, 2012). A esto se suma, su rol como fuente de variabilidad genética que permitiría la adaptación de la producción animal a condiciones ambientales y socioeconómicas cambiantes (Boettcher et al., 2010).

El desarrollo de planes de conservación permite mantener dicha variación genética y limitar el aumento de la consanguinidad (Toro et al., 2009).

En el año 2007, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), estableció un plan de acción mundial sobre los recursos zoogenéticos cuyas prioridades son combatir la pérdida de la diversidad genética animal y fomentar el uso sostenible de los recursos genéticos. El desarrollo de políticas nacionales y regionales para descubrir y describir los recursos, establecer núcleos de conservación y reproducción, programas de mejoramiento, son algunas de las estrategias planteadas (FAO, 2007). El segundo informe sobre la situación de los recursos zoogenéticos mundiales, publicado en el año 2015, aporta una evaluación de la biodiversidad ganadera, los avances más recientes y los desafíos actuales en la gestión de los recursos. Remarca la importancia de concientizar, capacitar e investigar sobre todas las áreas de la gestión de los recursos zoogenéticos, como el desarrollo de estrategias y programas de conservación y la cooperación internacional (<http://www.fao.org/3/a-i4787e.pdf>) (FAO, 2015).

### **2.3. Ovinos Criollos en Uruguay**

Los recursos zoogenéticos de Uruguay han sido descritos y cuantificados en los inventarios realizados por el Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca, y presentados a la FAO en el marco del plan de acción mundial mencionado. El informe describe dentro de los recursos zoogenéticos ovinos la existencia de varias razas utilizadas a nivel de productivo tanto en carne como en lana.

A su vez, se encuentran disponibles los datos de todas las razas uruguayas, incluidos los ovinos Criollos, en la base de datos DAD-IS (Domestic Animal Diversity Information System). Es una herramienta que brinda información para implementar estrategias para el manejo de los recursos zoogenéticos (<http://dad.fao.org>).

Los ovinos Criollos uruguayos constituyen uno de los recursos genéticos animales que dispone nuestro país. Los mismos se encuentran clasificados en riesgo de extinción

según los criterios establecidos por la FAO, en el documento sobre los Recursos Zoogenéticos Mundiales para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2010).

La caracterización de los ovinos Criollos comenzó con el estudio de las características morfológicas, llevado a cabo por el Área de Mejora Genética de la Facultad de Veterinaria (Fernández, 2000; Mernies et al., 2005 a y b). En el año 2011, se realizó la identificación individual de los animales y se inició la toma de registros de características de importancia productiva, en el proyecto “Crecimiento pre-destete en Ovinos Criollos del Parque Nacional de San Miguel”. Estos registros generaron la información para la primera descripción cuantitativa del crecimiento pre-destete de los corderos Criollos (Pieruccioni, 2012). En el año 2013 dio comienzo un proyecto en el que se evaluó el desempeño productivo y se empezó con la caracterización genética de esta población en base a la información molecular. Este proyecto fue llevado adelante por varias instituciones el Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), la Facultad de Veterinaria de la Universidad de la República, el Secretariado Uruguayo de la Lana y el Servicio de Parques del Ejército, y contó con financiamiento de la FAO. A su vez, en el año 2014 se llevó a cabo un estudio en Facultad de Veterinaria sobre el color, pH, parámetros oxidativos y contenido mineral en la carne de seis corderos Criollos (Mernies et al., 2014).

### **i) Introducción a América del Sur - Uruguay**

Los ovinos Criollos uruguayos son el resultado de la selección natural aplicada sobre las poblaciones ovinas introducidas desde el siglo XVI por los españoles, posiblemente constituidas por ovinos de razas autóctonas españolas como la Churra, la Manchega, la Rasa y la Canaria (Pedraza et al., 1992). Estas primeras poblaciones ovinas se expandieron por el territorio de América del Sur ingresando en la Banda Oriental sobre el siglo XVIII, logrando una buena adaptación a nuestro medio y llegando a ocupar la totalidad del territorio nacional. Durante la década de 1850, debido a una coyuntura externa (Guerra de Secesión Norteamericana), se crea una mayor demanda de lana por la industria textil europea debido a la imposibilidad de la importación de algodón desde el sur de los Estados Unidos, sumado a que el precio del ganado vacuno había descendido en los mercados mundiales, lo que hacía necesario compensar las bajas del precio del cuero, con la suba del precio de la lana. A partir de estos hechos se desencadena un cambio radical en el sector ovino del Uruguay, volcándose éste hacia la producción de lana tras un primer proceso de merinización (cruza con la raza Merino) de los rebaños Criollos originales (Fernández, 2000).

Hacia finales del mismo siglo, con el auge de los frigoríficos, se introducen razas carniceras. Se inicia una etapa en la cual la producción ovina no tuvo una dirección definida, lo que se reflejó en el uso de las razas; cuando el mercado favorecía la venta de carne, los productores cruzaban con razas carniceras mientras que cuando las condiciones eran favorables para venta de lana, cruzaban con la raza Merino. En 1975, se forma la Sociedad de criadores de ovinos Criollos.

Actualmente, quedan muy pocos rebaños de ovinos Criollos en el país. Se han podido identificar nueve rebaños de entre 5 y 400 ovinos, las cuales se encuentran distribuidos en todo el territorio nacional (Mernies et al., 2008). Uno de los rebaños más numerosos, se encuentra en el Parque Nacional de San Miguel. Este rebaño descende



del formado por iniciativa del señor Horacio Arredondo (Presidente de la Comisión de Conservación y Restauración de Fortaleza de Santa Teresa) en el año 1937. Hoy en día se encuentra administrado por el Servicio de Parques del Ejército.

## ii) Caracterización morfológica

Morfológicamente, los ovinos Criollos se caracterizan por presentar un perfil fronto-nasal y dorso-lumbar rectilíneo, con la cara desprovista de lana y la presencia de dos pares de cuernos en los machos y las hembras son mochas (Fernández, 2000). La mucosa bucal, así como las mucosas oculares y nasales, son completamente pigmentadas o presentan manchas marrones o negras (Mernies et al., 2005 a y b). El cuello no presenta pliegues ni mamellas. La coloración del vellón es variada, desde el color blanco al negro pasando por distintas gamas de marrón y gris, pero con tendencia hacia el blanco (Larrosa, 1988). Está integrado por una lanilla corta, fina y por mechas meduladas que llegan a alcanzar los 25 a 30 centímetros de longitud y tienen un diámetro que ronda las 40 micras mientras que para la lanilla no sobrepasa las 20 micras. Son animales que no tienen garreo y que logran pesos de vellón que varían entre 2 a 2,5 kg en las hembras y 3 a 4 kg en los machos

### (1) Parámetros biométricos

Como se observa en la Cuadro I, según el índice cefálico los individuos presentan una tendencia a la dolicocefalia (Iriarte, 2010). Por su parte, el índice torácico sugiere que son animales con una sección transversal de formato circular. Los índices dátilo-torácico y dátilo-costal, indican que el volumen corporal es acorde al desarrollo óseo (Mernies et al., 2007). Los índices pelviano transversal y pelviano longitudinal sugieren una tendencia al desarrollo del tejido muscular en la zona de los cortes cárnicos más valiosos (Iriarte, 2010). Son animales livianos, presentando pesos inferiores si se comparan con las razas comerciales (Pérez et al., 1986). Las extremidades son finas y sin lana (Mernies et al., 2005 a y b).

**Cuadro I.** Parámetros biométricos en los ovinos Criollos (Pérez et al., 1986; Mernies et al., 2005 a y b y 2007; Iriarte, 2010)

|                               | <i>Ovinos Criollos</i> |
|-------------------------------|------------------------|
| <i>Índices zoométricos</i>    |                        |
| Cefálico                      | 58,7±5,3               |
| Torácico                      | 82,0±12                |
| Dátilo-Torácico               | 14,5 ±3,2              |
| Dátilo-Costal                 | 83,2±26,3              |
| Pelviano Transversal          | 26,2±7,4               |
| Pelviano Longitudinal         | 40,3±4,0               |
| Perímetro de la caña (cm)     | 8,3                    |
| <i>Medidas zoométricas</i>    |                        |
| Alzada a la cruz machos (cm)  | 76                     |
| Alzada a la cruz hembras (cm) | 65                     |
| Peso promedio machos (kg)     | 55                     |
| Peso promedio hembras (kg)    | 37                     |

En las Figuras 1, 2 y 3 se pueden observar los rasgos morfológicos de los ovinos Criollos uruguayos del Parque Nacional de San Miguel.



**Figura 1.** Oveja Criolla de vellón oscuro, mocha, extremidades descubiertas y finas



**Figura 2.** Oveja Criolla con cordero al pie



### iii) Caracterización productiva

Es una raza con temperamento activo, de gran rusticidad, adaptada a la baja cantidad y calidad nutricional (Fernández, 2000).

En relación a la infestación por parásitos gastrointestinales, en un estudio realizado por Fernández y Remedi (2015) se encontraron bajas cargas parasitarias a lo largo de todo el año en todas las categorías. El promedio fue de 419 huevos de parásitos gastrointestinales por gramo de materia fecal para todas las categorías y sexo (Cuadro II). Los animales jóvenes presentaron conteos mayores que los adultos (Cuadro III). Las especies de parásitos encontrados fueron *Haemonchus*, *Trichostrongylus*, *Cooperia* y *Oesophagostomun* (Fernández y Remedi, 2015).

**Cuadro II.** Promedio de huevos de parásitos gastrointestinales por gramo de materia fecal por categoría, sexo y los totales (\* sólo carneros)

| Edad    | Hembras | Macho   | Total  |
|---------|---------|---------|--------|
| Adultos | 178,28  | 232,34* | 184,49 |
| Jóvenes | 447,02  | 625,55  | 538,00 |
| Total   | 326,03  | 571,37  | 419,00 |

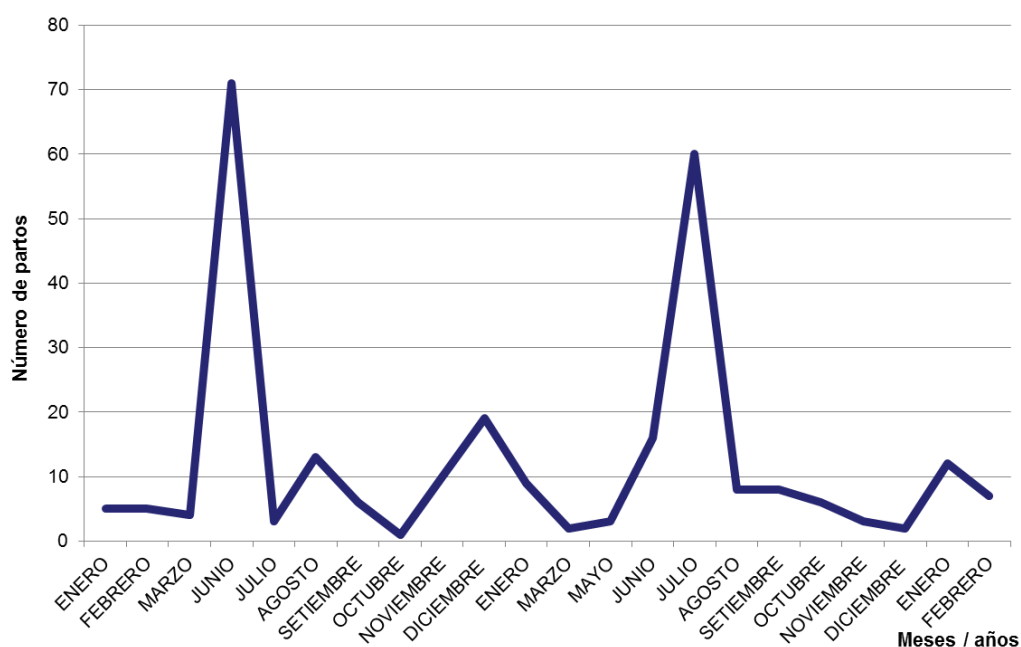
**Cuadro III.** Mediana de huevos de parásitos gastrointestinales por gramo de materia fecal por categoría, sexo y los totales (\* sólo carneros)

| Edad | Hembras | Macho | Total |
|------|---------|-------|-------|
|------|---------|-------|-------|

|         |     |     |     |
|---------|-----|-----|-----|
| Adultos | 42  | 82* | 42  |
| Jóvenes | 122 | 282 | 162 |
| Total   | 82  | 242 | 122 |

La mayoría de las lesiones podales evidenciadas están asociadas al ambiente donde habitan, se mencionan, sobrecrecimiento de las pezuñas, muralla quebrada y con crecimiento defectuoso. No se constataron lesiones compatibles con pietín en las condiciones ambientales en que se encuentran.

Con respecto a los aspectos reproductivos, en las ovejas Criollas se constataron dos períodos marcados de pariciones, (otoño-invierno y en primavera-verano), como se observa en la Figura 4. Es de destacar que se registraron 43 ovejas con dos partos en el mismo año, y sólo dos tuvieron mellizos. Los valores mínimo y máximo de intervalo entre partos fueron 160 días y 247 días (Macedo et al., 2014).



**Figura 4.** Distribución de los partos por meses desde el 2013 al 2015

### 3. Variabilidad genética

La variabilidad genética se define como la variedad de genotipos, haplotipos y alelos presentes en la población, que determinan la habilidad de la población para adaptarse, evolucionar o mejorar genéticamente (Toro et al., 2014).

Tradicionalmente, los parámetros para estimar la diversidad genética se obtenían a partir de los registros genealógicos. Sin embargo, muchas veces obtener dicha información resulta complejo o no está disponible o lo está en forma incompleta en las

poblaciones en riesgo (Keller et al., 2011). Estas circunstancias hacen que los marcadores moleculares sean una alternativa para cuantificar la variabilidad genética.

Los marcadores moleculares se definen como polimorfismos del ADN que se pueden detectar fácilmente mediante un análisis fenotípico o molecular. Puede hallarse dentro de un gen o en ADN sin función conocida (FAO, 2010).

La mayoría de los trabajos enfocados a las determinaciones de la diversidad genética han utilizado como marcadores los microsatélites (Baumung et al., 2004; Crispim et al., 2013).

En los últimos años se ha producido un rápido desarrollo de la genómica, en base a la posibilidad de realizar genotipados de alta densidad usando polimorfismos de nucleótido simple (SNP). Un SNP es una variación en la secuencia de ADN que afecta a una sola base (adenina (A), timina (T), citosina (C) o guanina (G)) de una secuencia del genoma. Este cambio de una única base por otra puede ser como transición si corresponde al cambio de una base del mismo tipo por otra (A>G o T>C) o como transversión si una base se sustituye por otra de diferente tipo (A>T o G>C) (Vignal et al., 2002).

Las estimaciones obtenidas a través de los microsatélites y SNP no son comparables directamente. Los primeros son altamente polimórficos (FAO, 2010), mientras que los SNP en su mayoría tienen naturaleza bialélica. Esto implica que los SNP proporcionan relativamente menos información por locus, lo cual se ve compensada por el mayor número de marcadores distribuidos uniformemente y que cubren una gran proporción del genoma (Astorga, 2008). A su vez, los microsatélites y SNP también difieren con respecto a la tasa de error, donde los primeros pueden tener una mayor tasa de errores de genotipado (Ball et al., 2010).

La información genómica presenta ventajas aún en las situaciones en que existan registros genealógicos ya que: 1) reflejan los porcentajes de homocigosis reales en los individuos y poblaciones, en lugar de los valores promedios esperados que son obtenidos a partir de la genealogía; 2) permite la caracterización de regiones específicas o cromosomas, lo que genera la oportunidad de mantener la diversidad en regiones particulares del genoma y mapear aquellas directamente involucradas en la depresión endogámica o con efecto deletéreo; 3) es posible estimar homocigosis de origen ancestral, mientras que las estimaciones genealógicas están condicionadas a la población base (Toro et al., 2014).

Es posible estimar los niveles de variabilidad genética dentro de las poblaciones y analizar las relaciones genéticas existentes entre las mismas. Hay diferentes parámetros para la caracterización de la variabilidad genética de una población, y utilizados en el manejo para conservación de la diversidad. Algunos de estos parámetros son heterocigosis observada y esperada, parentesco y consanguinidad, desequilibrio de ligamiento y el tamaño efectivo de una población.

### **3.1 Heterocigosis observada y esperada**

La heterocigosidad observada ( $H_o$ ) y la heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) son medidas de la diversidad genética de una población (Toro et al., 2009).

La  $H_o$  se define como la proporción de individuos heterocigotos presentes en la población. La  $H_e$  es la probabilidad que dos alelos elegidos al azar sean diferentes o en otras palabras es la  $H_o$  que tiene si la población está en equilibrio Hardy-Weinberg (Toro et al., 2009). Se puede calcular para un locus particular mediante la siguiente fórmula (Nei, 1973):

$$H_e = 1 - \sum_{i=1}^k p_i^2$$

siendo,  $x_i$ : la frecuencia del alelo  $i$  y  $k$ : el número de alelos.

### 3.2 Desequilibrio de ligamiento

El desequilibrio de ligamiento (DL) es la asociación no aleatoria de los alelos en dos o más loci en una población. Las técnicas de genotipado masivo desarrolladas recientemente han permitido darle énfasis a las investigaciones sobre la magnitud y los patrones del DL en poblaciones animales como en bovinos (Zhu et al., 2014), ovinos (Kijas et al., 2012, Al-Mamun et al., 2015), cerdos (Nsengimana et al., 2016) y caballos (Corbin et al., 2010).

Los niveles del DL se ven afectados por factores dentro de los que se mencionan la tasa de mutación, la tasa de recombinación, además, existen otros factores que contribuyen en el grado y la distribución del desequilibrio como son: la selección natural, la deriva, la migración, el crecimiento poblacional y la estructura de la población (Zhu et al., 2013).

El estudio de los patrones del desequilibrio de ligamiento permite dar una visión de la historia de una población (García-Gómez et al., 2012). Además, refleja el tamaño efectivo histórico de la población y la tasa de recombinación (Biegelmeyer et al., 2016).

Para cuantificar el DL se han propuesto varios coeficientes, los cuales tienen relación con la estadística  $D$ , que se define como  $D_{AB} = p_{AB} - p_A p_B$ , siendo  $p_{AB}$  la frecuencia del haplotipo AB y  $p_A$  y  $p_B$  las frecuencias de los alelos A y B, respectivamente (Slatkin, 2008).

Debido a la dependencia de  $D$  de las frecuencias génicas y dificultades en la interpretación de su magnitud, otros coeficientes han sido desarrollados a partir de  $D$  (Du et al., 2007). Una de las más utilizadas es el coeficiente de correlación al cuadrado ( $r^2$ ) entre pares de loci (Hill y Robertson, 1968), el cual varía entre 0 y 1. Cuando el  $r^2$  es igual a 1 existe asociación total entre los alelos y cuando es igual a 0 los loci son independientes. Este coeficiente se calcula como:  $r^2 = D^2 / p_A p_B p_a p_b$ , donde  $D = p_{AB} - p_A p_B$ ,  $p_{AB}$  es la frecuencia del haplotipo AB y  $p_A$ ,  $p_a$ ,  $p_B$  y  $p_b$  son las frecuencias de los alelos A, a, B y b, respectivamente (Hill y Robertson, 1968).

### 3.3 Tamaño efectivo

El tamaño efectivo de la población ( $N_e$ ) se define como el tamaño de una población ideal que muestra la misma cantidad de deriva genética o tasa de consanguinidad que la población que estamos estudiando (Wright, 1931).

Este parámetro es utilizado para evaluar el estado de peligro de una determinada población (FAO, 2010) siendo valioso en diferentes campos de la genética, especialmente en genética de la conservación, ya que brinda información relevante sobre el patrón de diversidad genética presente en la población y predice la evolución de la misma, por lo que su estimación debe ser precisa (Saura et al., 2015).

La población de ovinos Criollos como se mencionó anteriormente se encuentra en peligro de extinción y los registros históricos indican que se produjo un drástico descenso en el tamaño de poblacional durante el siglo XIX. Esta disminución puede implicar la pérdida de variación genética de esta población. Por lo tanto, estudiar y mantener  $N_e$  es fundamental para la aplicación de estrategias óptimas de conservación.

#### 3.3.1 Estimación del tamaño efectivo

Las estimaciones del  $N_e$  pueden realizarse en base a la información demográfica, genealógica o molecular (Flury et al., 2010). Para la aplicación de los dos primeros métodos se requieren los datos genealógicos lo cuales no están disponibles, o son incompletos, en el caso de poblaciones silvestres o en condiciones muy extensivas que no permiten llevar el tipo de registro necesarios.

Los métodos en base a información molecular brindan la oportunidad de contar con estas estimaciones cuando los métodos anteriores no pueden ser aplicados. El método temporal se basa en el estudio de las frecuencias alélicas en muestras tomadas en al menos dos momentos y proporciona estimaciones de  $N_e$  a corto plazo (Waples, 1989). El segundo método, requiere solamente una muestra y debido a que utiliza una mayor cantidad de información lleva a estimaciones más precisas de  $N_e$  y de su evolución (Saura et al., 2015).

La relación entre el DL y el  $N_e$  fue derivada por Sved (1971), en base al trabajo de Hill y Robertson (1968). Sin embargo, la ecuación de Sved no tiene en cuenta la mutación ni el tamaño de muestra. La consecuencia de ignorar la mutación es que incluso con un ligamiento físico la asociación esperada entre loci es incompleta y lleva a la subestimación de  $r^2$ . La consecuencia de ignorar el tamaño muestral es que la magnitud de  $r^2$  puede ser sobrestimada en muestras de pequeño tamaño como consecuencia de una falsa asociación (Corbin et al., 2012). La fórmula más general que tiene en cuenta la mutación y el tamaño muestral es la siguiente:

$$E [r^2] = (\alpha + 4N_e c)^{-1} + 1/N,$$

donde  $\alpha$  es un parámetro relacionado con la tasa de mutación (Hill, 1975; McVean, 2002),  $c$  es la tasa de recombinación y  $1/N$  es el ajuste para el tamaño muestral. Hay que tener en cuenta que  $4N_e$  corresponde a la pendiente y  $\alpha$  es el intercepto de la ecuación de regresión. El parámetro  $\alpha$  puede ser fijado a un valor concreto (1 en ausencia de mutación o 2 cuando la mutación es considerada) o estimarse a partir de los datos.

Saura et al. (2015) demostraron que las estimaciones de  $N_e$  basadas en DL son precisas cuando están basadas en información genómica y es aplicable a poblaciones de tamaño reducido. Esto confirma la utilidad de la información genómica en su aplicación en la conservación de recursos zoogenéticos.

### **3.4 Coascendencia molecular**

Tradicionalmente, el parentesco entre pares de individuos estaba definido en base a la información genealógica. En este caso el coeficiente de coascendencia es la probabilidad de dos alelos de un locus fueran idénticos por descendencia, es decir copias de un mismo alelo de un ancestro en común. En el caso del uso de información molecular, el parentesco molecular entre dos individuos se define como la probabilidad de que dos alelos elegidos al azar, uno de cada individuo, sean idénticos en estado (Caballero y Toro, 2002).

Se espera que las estimaciones genómicas sean más precisas que las basadas con información genealógica, ya que las primeras reflejan el porcentaje del genoma que está en homocigosis (consanguinidad) o el porcentaje actual del genoma que comparten dos individuos (parentesco), mientras que la basada en genealogía indica las proporciones esperadas promedio (Fernández et al., 2016). Las estimaciones genómicas permiten además capturar las relaciones debido a un ancestro en común muy lejano, que las estimaciones con genealogía ignoran (Keller et al., 2011). Se han propuesto varios métodos para expresar en la misma escala los coeficientes genómicos y genealógicos, pero se requiere conocer las frecuencias alélicas de la población base, y en general éstas son desconocidas (Toro et al., 2014).

Estimaciones realizadas por Saura et al. (2013) con información genómica (alta densidad de SNP) y genealógica muestran que existe una elevada correlación entre ambas, y mayores a las obtenidas con microsatélites.

### **3.5 Consanguinidad molecular**

La consanguinidad ( $F$ ) es un indicador del grado de homocigosis de una población y por ende está en relación inversa con la heterocigosidad (por ejemplo:  $H_o = 1 - F$ , Fernández et al., 2016).

El incremento de la consanguinidad es el resultado del aumento del parentesco de la población y de un  $N_e$  reducido. El incremento en la homocigosis está asociado con la reducción de la variabilidad genética y a la depresión endogámica, las cuales



condicionan la sobrevivencia de las poblaciones animales (Charlesworth y Willis, 2009).

### 3.5.1 Consanguinidad molecular ( $F_{SNP}$ )

Al igual que el coeficiente de coascendencia, la consanguinidad ha sido tradicionalmente cuantificada en base a información genealógica, siendo el coeficiente de consanguinidad la probabilidad de que un individuo tenga dos alelos en el mismo locus que sean copias de un antepasado común (Falconer y Mackay, 1996). Cuando la estimación está basada en información molecular la consanguinidad considera la probabilidad de que los alelos sean IBS, en lugar de IBD.

El  $F_{SNP}$  puede calcularse directamente considerando la homocigosis de todos los marcadores o partir de la asociación existente entre consanguinidad y el parentesco. Siendo el coeficiente de coascendencia molecular ( $f_{SNPij}$ ) entre dos individuos  $i$  y  $j$ ,

$$f_{SNPij} = (1/L) \sum_{l=1}^L \left[ \left( \sum_{k=1}^2 \sum_{m=1}^2 I_{lk(i)m(j)} \right) / 4 \right]$$

donde  $L$  es el número de SNP y  $I_{lk(i)m(j)}$  es la identidad del alelo  $k$  ésimo del animal  $i$  con el alelo  $m$  ésimo del animal  $j$  en SNP  $l$ , el coeficiente de consanguinidad molecular para el individuo  $i$  ( $F_{SNP}$ ) se calcula como  $2f_{SNPii} - 1$  (Saura et al., 2013).

### 3.5.2 Consanguinidad molecular basada en tramos de homocigosis (ROH)

Otra forma de estimar la consanguinidad con información genómica es a través de los tramos de homocigosis (ROH) descubiertos en humanos por Broman y Weber en 1999 (Curik et al., 2014) y luego investigados en varias especies animales productivas (Bosse et al., 2012).

Los ROH son segmentos largos del ADN de loci homocigotos consecutivos, siendo el coeficiente de consanguinidad molecular calculado en base a ROH ( $F_{ROH}$ ) definido como la proporción del genoma de un individuo que se encuentra formado por estos segmentos de homocigosis (Gómez-Romano, 2015). En la medida que los ROH sean largos, es más probable que las dos copias que un individuo haya recibido provengan un ancestro común reciente. Esto hace que las estimaciones de consanguinidad en base ROH se consideren mejores predictoras del IBD que las obtenidas por el  $F_{SNP}$  (Purfield et al., 2012; Bjelland et al., 2013; Toro et al., 2014).

El  $F_{ROH}$  se calcula como la longitud total de todos los ROH en el genoma de un individuo sobre longitud del genoma autosomal cubierto por SNP en el panel utilizado para genotipar (McQuillan et al., 2008).

La habilidad de los ROH para revelar información sobre los eventos genéticos recientes o lejanos hace que sea útil para analizar la historia de una población (Ferenčaković et al., 2013a). La longitud de los ROH está correlacionada con la tasa de recombinación (Purfield et al., 2012; Bjelland et al., 2013). Los ROH largos son generados por una consanguinidad reciente mientras que los segmentos cortos reflejan consanguinidades lejanas (Hamzic, 2011; Purfield et al., 2012; Bjelland et al., 2013). Por otro lado, la posición en el cromosoma de los ROH también estaría correlacionada con la tasa de recombinación, la parte central de cromosoma tiene tasa de recombinación más baja que las zonas periféricas, por lo que los largos aparecen en la mitad y los cortos en los extremos (Bosse et al., 2012).

Los ROH no se encuentran uniformemente distribuidos a lo largo del genoma, pero son más prevalentes en determinadas zonas, llamadas islas de ROH (Nothnagel et al., 2010). El estudio de los efectos de las islas de ROH permitirá evaluar la asociación de estas con caracteres de importancia productiva.

Para la estimación de los ROH se deben establecer una serie de parámetros los cuales condicionan los resultados (Howrigan et al., 2011) y son en parte arbitrarios (Fernández et al., 2016). Existen varios factores a ser considerados. La densidad del panel de SNP que se usa para generar los datos es un factor que afecta fuertemente las estimaciones. La frecuencia de error de genotipado como los controles de calidad del genotipado son otros elementos que pueden afectar estimaciones de los ROH. Otro punto clave, es el software que se utiliza ya que afectaría fuertemente la eficiencia de la detección (Ferenčaković et al., 2013b).

#### **4. Estimaciones obtenidas por diferentes autores**

En el Cuadro IV, se resumen las estimaciones de la  $H_o$ , la  $H_e$ , el parentesco molecular, la consanguinidad molecular ( $F_{SNP}$  y  $F_{ROH}$ ), el desequilibrio de ligamiento calculado en base al  $r^2$ , el  $N_e$  y el  $N_{ROH}$ . Los mismos fueron recabados de distintos estudios en diferentes especies y razas de ovinos, bovinos y suinos.

Como se puede observar se muestran resultados de trabajos los cuales utilizaron diferentes marcadores moleculares. En un principio los más usados para dichas estimaciones eran los microsatélites, luego se sumaron los paneles de SNP. La densidad de los paneles de SNP puede variar dependiendo de la especie de la que se trate. Para los bovinos y ovinos se cuenta con el panel de 50K SNP (Gutierrez et al., 2011; Kijas et al., 2012; Mastrangelo et al., 2014) y ya se han llegado a incluir hasta 700K SNP en el Infinium BovineHD BeadChip y Ovine HD BeadChip, respectivamente (Pertoldi et al., 2014; Kijas et al., 2014). En el caso de los cerdos se utiliza un panel de 60K SNP (Saura et al., 2013; Zanella et al., 2016).

Se debe tener en cuenta el tipo y la densidad de los marcadores que se utilice, debido a que los resultados que se obtienen no estarán bajo las mismas condiciones y no hace compatible su comparación. Como se puede ver, los valores de la  $H_o$  y la  $H_e$  estimados con microsatélites son mayores a los obtenidos con los SNP (Dalvit et al., 2008; De la Barra et al., 2010). Esto se explica por las diferentes características que presentan estos marcadores, las cuales fueron detalladas anteriormente.

Como se evidencia en el Cuadro IV, existe relación entre los parámetros calculados. En el trabajo de Al –Mamun et al (2015), donde se obtuvieron valores de la  $H_o$ , la  $H_e$ , el  $N_e$  y el desequilibrio de ligamiento, se observó que aquellas razas con menores valores de  $H_o$  y  $H_e$ , tenían menores  $N_e$  y un mayor grado de desequilibrio de ligamiento ( $r^2$ ). A su vez, estos autores comparan razas puras y sus cruza, y se evidenciaron que las cruza presentan mayor variabilidad genética. Resultados similares se constataron en los trabajos de Beyon et al (2015) donde los mayores valores de  $H_o$  se observaron en las razas ovinos con mayores  $N_e$  y en Kijas et al. (2014) donde se obtuvo una relación inversa entre el  $r^2$  y la  $H_o$ . Esto puede explicarse debido a que la pérdida de diversidad genética, la cual se estima en base a valores de  $H_o$  y  $H_e$ , va a depender del  $N_e$  de la población.

A su vez, si se observan la  $H_o$  y  $H_e$  con el panel de 50K SNP en las razas ovinas, las razas con menores valores son la Soay y la Criolla, las cuales son razas primitivas y se han mantenido cerradas (Kijas et al., 2012; Grasso et al., 2014).

Además, un bajo  $N_e$ , lleva a un aumento de la consanguinidad en las poblaciones, lo que se observa al evaluar que las razas con menores  $N_e$  presentaron mayores valores de  $F_{ROH}$  y de números de ROH (Al –Mamun et al., 2015; Zanella et al., 2016).

Con respecto, a la determinación de los coeficientes de consanguinidad molecular, se observó que el  $F_{SNP}$ , presentó mayor valor que el coeficiente estimado en base a los ROH ( $F_{ROH}$ ). La razón sería que la estimación SNP-por-SNP no diferencia entre IBD o por estado, sin embargo, las estimaciones basadas en ROH reflejan mejor IBD (Rodríguez-Ramillo et al., 2015).

En resumen, existen diferentes marcadores moleculares que brindan la posibilidad de realizar estimaciones en poblaciones donde los cálculos con la información genealógica resultan complicados. Los resultados obtenidos con diferentes marcadores moleculares no son comparables entre sí. Hay que destacar que aquellas razas que presentaron menores valores de variabilidad genética expresada por la  $H_o$  y  $H_e$ , mostraban menores valores de  $N_e$  y mayores valores de  $F_{SNP}$ ,  $f$ ,  $r^2$ ,  $F_{ROH}$  y  $N_{ROH}$ .

Cuadro IV. Resumen de parámetros estimados en diferentes razas obtenidos por diversos autores

| <b>Autores</b>           | <b>Especie</b> | <b>Raza</b>          | <b>Marcador molecular</b>          | <b>He</b> | <b>Ho</b> | <b>f<sub>SNP</sub></b> | <b>F<sub>SNP</sub></b> | <b>Ne</b> | <b>DL (r<sup>2</sup>)</b> | <b>F<sub>ROH</sub></b> | <b>N<sub>ROH</sub></b> |
|--------------------------|----------------|----------------------|------------------------------------|-----------|-----------|------------------------|------------------------|-----------|---------------------------|------------------------|------------------------|
| Dalvit et al., 2008      | Ovina          | Bergamasca           | Microsatélites                     | 0,782     | 0,722     | --                     | --                     | --        | --                        | --                     | --                     |
| Dalvit et al., 2008      | Ovina          | Biellese             | Microsatélites                     | 0,794     | 0,717     | --                     | --                     | --        | --                        | --                     | --                     |
| De la Barra et al., 2010 | Ovina          | Chilota              | Microsatélites                     | 0,755     | 0,605     | --                     | --                     | --        | --                        | --                     | --                     |
| De la Barra et al., 2010 | Ovina          | Suffolk Down         | Microsatélites                     | 0,716     | 0,809     | --                     | --                     | --        | --                        | --                     | --                     |
| De la Barra et al., 2010 | Ovina          | Corriedale           | Microsatélites                     | 0,714     | 0,774     | --                     | --                     | --        | --                        | --                     | --                     |
| De la Barra et al., 2010 | Ovina          | Romney Marsh         | Microsatélites                     | 0,695     | 0,595     | --                     | --                     | --        | --                        | --                     | --                     |
| Gutiérrez et al., 2011   | Ovina          | Castellana           | Illumina<br>OvineSNP50<br>beadchip | 0,367     | 0,378     | --                     | --                     | --        | --                        | --                     | --                     |
| Gutiérrez et al., 2011   | Ovina          | Churra               | Illumina<br>OvineSNP50<br>beadchip | 0,359     | 0,354     | --                     | --                     | --        | --                        | --                     | --                     |
| Gutiérrez et al., 2011   | Ovina          | Ojalada              | Illumina<br>OvineSNP50<br>beadchip | 0,369     | 0,373     | --                     | --                     | --        | --                        | --                     | --                     |
| Gutiérrez et al., 2011   | Ovina          | Rasa                 | Illumina<br>OvineSNP50<br>beadchip | 0,375     | 0,384     | --                     | --                     | --        | --                        | --                     | --                     |
| Kijas et al., 2012       | Ovina          | Criolla<br>Brasilera | Illumina<br>OvineSNP50<br>beadchip | 0,360     | --        | --                     | --                     | 371       | --                        | --                     | --                     |

|                          |        |                     |                                       |       |       |       |       |     |       |    |    |
|--------------------------|--------|---------------------|---------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-----|-------|----|----|
| Kijas et al., 2012       | Ovina  | Rambouillet         | Illumina<br>OvineSNP50<br>beadchip    | 0,360 | --    | --    | --    | 709 |       | -- | -- |
| Kijas et al., 2012       | Ovina  | Soay                | Illumina<br>OvineSNP50<br>beadchip    | 0,260 | --    | --    | --    | 194 |       | -- | -- |
| Saura et al., 2013       | Suina  | Ibérico             | Illumina<br>Porcine SNP60<br>BeadChip | --    | --    | 0,820 | 0,810 | --  | --    | -- | -- |
| Kijas et al., 2014       | Ovina  | Merino<br>(machos)  | Ovine HD<br>BeadChip                  | 0,339 | --    | --    | --    | --  | 0,191 | -- | -- |
| Kijas et al., 2014       | Ovina  | Poll Dorset         | Ovine HD<br>BeadChip                  | 0,331 | --    | --    | --    | --  | 0,279 | -- | -- |
| Kijas et al., 2014       | Ovina  | Suffolk             | Ovine HD<br>BeadChip                  | 0,336 | --    | --    | --    | --  | 0,221 | -- | -- |
| Kijas et al., 2014       | Ovina  | Border<br>Leicester | Ovine HD<br>BeadChip                  | 0,319 | --    | --    | --    | --  | 0,339 | -- | -- |
| Grasso et al., 2014      | Ovina  | Corriedale          | Illumina<br>OvineSNP50<br>beadchip    | 0,355 | 0,355 | --    | --    | --  | --    | -- | -- |
| Grasso et al., 2014      | Ovina  | Merino              | Illumina<br>OvineSNP50<br>beadchip    | 0,362 | 0,377 | --    | --    | --  | --    | -- | -- |
| Grasso et al., 2014      | Ovina  | Criollo             | Illumina<br>OvineSNP50<br>beadchip    | 0,258 | 0,285 | --    | --    | --  | --    | -- | -- |
| Mastrangelo et al., 2014 | Bovina | Cinisara            | Illumina<br>BovineSNP50<br>BeadChip   | --    | --    | 0,670 | 0,680 | 19  | 0,192 | -- | -- |

|                          |        |                       |                               |       |       |       |       |     |       |    |       |
|--------------------------|--------|-----------------------|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|-----|-------|----|-------|
| Mastrangelo et al., 2014 | Bovina | Modicana              | Illumina BovineSNP50 BeadChip | --    | --    | 0,700 | 0,690 | 12  | 0,234 | -- | --    |
| Pertoldi et al., 2014    | Bovina | Angus                 | Illumina Bovine HD BeadChip   | 0,287 | 0,296 | --    | --    | --  | --    | -- | --    |
| Pertoldi et al., 2014    | Bovina | Charolais             | Illumina Bovine HD BeadChip   | 0,313 | 0,316 | --    | --    | --  | --    | -- | --    |
| Pertoldi et al., 2014    | Bovina | Hereford              | Illumina Bovine HD BeadChip   | 0,314 | 0,324 | --    | --    | --  | --    | -- | --    |
| Pertoldi et al., 2014    | Bovina | Holstein              | Illumina Bovine HD BeadChip   | 0,308 | 0,311 | --    | --    | --  | --    | -- | --    |
| Pertoldi et al., 2014    | Bovina | Limousin              | Illumina Bovine HD BeadChip   | 0,311 | 0,312 | --    | --    | --  | --    | -- | --    |
| Al-Mamun et al., 2015    | Ovina  | Border Leicester (BL) | Illumina OvineSNP50 beadchip  | 0,300 | 0,300 | --    | --    | 140 | 0,335 | -- | 12561 |
| Al-Mamun et al., 2015    | Ovina  | Merino (M)            | Illumina OvineSNP50 beadchip  | 0,380 | 0,380 | --    | --    | 348 | 0,270 | -- | 2008  |
| Al-Mamun et al., 2015    | Ovina  | Poll Dorset (PD)      | Illumina OvineSNP50 Beadchip  | 0,340 | 0,340 | --    | --    | 152 | 0,334 | -- | 9875  |
| Al-Mamun et al., 2015    | Ovina  | M x BL                | Illumina OvineSNP50 Beadchip  | 0,370 | 0,400 | --    | --    | 272 | 0,288 | -- | 80    |

|                                |        |                                 |                                       |       |       |       |       |      |       |       |      |
|--------------------------------|--------|---------------------------------|---------------------------------------|-------|-------|-------|-------|------|-------|-------|------|
| Al-Mamun et al., 2015          | Ovina  | M x BL x PD                     | Illumina<br>OvineSNP50<br>beadchip    | 0,380 | 0,400 | --    | --    | 152  | 0,300 | --    | 331  |
| Rodríguez-Ramillo et al., 2015 | Bovina | Holstein                        | Illumina<br>BovineSNP50<br>BeadChip   | --    | --    | 0,645 | 0,645 | 74,4 |       | 0,077 |      |
| Beynon et al., 2015            | Ovina  | Hill Flock<br>Welsh<br>Mountain | Illumina<br>OvineSNP50                | 0,367 | --    | --    | --    | 431  | --    | --    | --   |
| Beynon et al., 2015            | Ovina  | Beulah                          | Illumina<br>OvineSNP50                | 0,324 | --    | --    | --    | 102  | --    | --    | --   |
| Beynon et al., 2015            | Ovina  | Balwen                          | Illumina<br>OvineSNP50                | 0,323 | --    | --    | --    | 94   | --    | --    | --   |
| Beynon et al., 2015            | Ovina  | Black Welsh<br>Mountain         | Illumina<br>OvineSNP50                | 0,327 | --    | --    | --    | 88   | --    | --    | --   |
| Zanella et al., 2016           | Suina  | Landrace                        | Illumina<br>Porcine SNP60<br>BeadChip | --    | --    | --    | 0,668 | 740  | 0,459 | 0,094 | 52,7 |
| Zanella et al., 2016           | Suina  | Large White                     | Illumina<br>Porcine SNP60<br>BeadChip | --    | --    | --    | 0,667 | 572  | 0,497 | 0,106 | 61,4 |

*Ho: Heterocigosidad observada; He: Heterocigosidad esperada;  $f_{SNP}$ : Parentesco molecular;  $F_{SNP}$ : Consanguinidad molecular SNP-por-SNP; DL: Desequilibrio de ligamiento para una distancia física hasta 10 kb; Ne: Tamaño efectivo; FROH: Consanguinidad basada ROH; NROH; Número de ROH*

## 5. CARACTERIZACIÓN DEL PROBLEMA

La caracterización productiva de los ovinos Criollos indica la presencia de atributos de alto interés para la producción ovina que ameritan ser analizados en mayor profundidad (baja incidencia de problemas podales, bajas cargas de parásitos gastrointestinales y la distribución de partos continua a lo largo del año).

Para poder profundizar en el estudio de los ovinos Criollos, es necesario establecer un manejo del rebaño que evite su extinción y la pérdida de variación genética. Para ello se requiere caracterizar la variabilidad existente, en base a la cual se establecerán luego estrategias de manejo para su conservación.

Dada la ausencia de datos genealógicos en los ovinos Criollos, es necesario realizar la estimación de parámetros de variabilidad a partir de información genómica. La misma fue obtenida a partir de paneles de alta densidad de SNP, lo que permite estimaciones más precisas en comparación con otros marcadores moleculares (Saura et al., 2013). Excepto por el trabajo de Grasso et al. (2014) no existen antecedentes nacionales de uso de información genómica en la caracterización genética de recursos animales.

La heterocigocidad mide la variación genética de la población y es uno de los parámetros más utilizados. La consanguinidad y la coascendencia molecular están basadas en la identidad por estado, en lugar de identidad por descendencia. A pesar de la diferencia de escala con las estimaciones genealógicas, están muy correlacionadas. En términos generales, las estimaciones con información genómica son más precisas ya que cuantifican los valores de homocigocidad reales en la población, mientras que las estimaciones genealógicas están basadas en valores esperados promedio (Toro et al., 2014). A su vez por medio de los tramos de homocigosidad, los que reflejan mejor la identidad por descendencia, se puede obtener información acerca de consanguinidad reciente o lejana (Purfield et al., 2012).

El desequilibrio de ligamiento refleja la magnitud de asociación no aleatoria entre dos marcadores. Dicho parámetro va a informar sobre la historia evolutiva, ayudando a comprender los patrones de selección a los que se han sometido las razas individuales (García-Gómez et al., 2012). El tamaño efectivo se va a determinar a través del método del desequilibrio de ligamiento el cual proporciona estimaciones con gran precisión y en diferentes períodos de tiempo (generaciones hacia atrás).

El resolver estas interrogantes, permitirá tener una visión más amplia acerca del estado de esta población pasado y actual, para así implementar estrategias o planes de conservación que garanticen la diversidad y evitar la extinción de este recurso zoogenético.

## 6. HIPÓTESIS

- 1) El rebaño de ovinos Criollos del Parque Nacional de San Miguel presenta un grado de homocigosis elevado debido al tamaño reducido de la población.



- 2) El parentesco promedio de la población de ovinos Criollos es elevado, lo que implica una limitación para la reducción del aumento de la homocigosis indicado por la tasa de consanguinidad.

## **7. OBJETIVOS**

### **7.1. Objetivo general**

- 1) Cuantificar la variabilidad genética de la población de ovinos Criollos del Parque Nacional de San Miguel a través del análisis de información genómica obtenida por el genotipado de alta densidad de SNP.

### **7.2. Objetivos específicos:**

- i. Estimar los niveles de diversidad genética, coascendencia y consanguinidad molecular.
- ii. Determinar los patrones de desequilibrio de ligamiento y el censo efectivo a partir de dichos patrones.
- iii. Comparar los niveles de diversidad genética, coascendencia y consanguinidad molecular de los ovinos Criollos con aquellos de las dos razas comerciales más numerosas en el Uruguay, Corriedale y Merino.
- iv. Identificar y caracterizar los patrones de ROH en razas ovinas comerciales, como son Merino y Corriedale, y en los ovinos Criollos de Uruguay.
- v. Evaluar y comparar los niveles de consanguinidad  $F_{ROH}$  y  $F_{SNP}$  en las tres razas ovinas.
- vi. Determinar el impacto en la caracterización de ROH de los dos paneles de SNP de distinta densidad (606K y 50K) utilizados en los análisis.

## **8. ESTRATEGIAS DE LA INVESTIGACIÓN**

El estudio tomó como referencia el mayor rebaño de ovinos Criollos que está localizado en el Parque Nacional de San Miguel. Se realizó en el marco del proyecto "Caracterización productiva y conservación de ovinos Criollos del Uruguay" que fue llevado adelante por el Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), la Facultad de Veterinaria de la Universidad de la República, el Secretariado Uruguayo de la Lana y el Servicio de Parques del Ejército, con financiamiento de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura.

En la primera parte se cuantificó la variabilidad genética de la población en base a la estimación de parámetros tradicionales como son la heterocigosis observada y esperada y el parentesco y consanguinidad molecular  $F_{SNP}$ . Estos parámetros se

estimaron para los ovinos Criollos y se compararon con los de dos razas comerciales, Corriedale y Merino.

Se determinaron los niveles de desequilibrio de ligamiento a lo largo del genoma y en base a esta información se estimó el tamaño efectivo de la población y su evolución desde el momento de la formación de este rebaño.

En segundo lugar, se caracterizaron los niveles de consanguinidad de la población en base a  $F_{ROH}$ , tomando en cuenta la incidencia de la consanguinidad de origen remoto y reciente. Asimismo, se analizó el patrón de distribución de dichos segmentos a lo largo del genoma. En este estudio se determinaron los parámetros de identificación de los ROH que permiten la comparación y estudio conjunto de información genómica obtenible a partir de los paneles de 50K SNP.

Como parte del proceso de formación, en los meses de febrero y marzo de 2016 se realizó una pasantía en el Departamento de Mejora Genética del INIA-Madrid bajo la supervisión de las Dras. Beatriz Villanueva y María Saura. La pasantía fue financiada por la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII), en la modalidad de beca de movilidad tipo capacitación 2015 (MOV\_CA\_2015\_1\_107452).

Se lista las presentaciones orales realizadas, así como los trabajos presentados como posters y los artículos en los que se ha participado como primera autora y como coautora.

### **8.1. Presentaciones orales:**

1. Pieruccioni, F.; Macedo, F.; Ciappesoni, G.; Navajas, E.A. 2015. Variabilidad genética global y por segmentos cromosómicos en razas ovinas comerciales y criollas, en la Jornada de Agrobiotecnología, realizada el 30 de octubre de 2015, en Montevideo.
2. Exposición por parte de la DMV Florencia Pieruccioni en la cuarta Exposición Internacional de Demostración en Vivo de Alimentación Animal Basada en Nueva Tecnología (Expo Melilla), presentación denominada “Descubriendo al ovino Criollo”, realizada el 17 de abril de 2015, en Ruta 5 km 11.500 Camino La Granja, Melilla, Uruguay.
3. Pieruccioni, F.; Macedo, F.; Ciappesoni, G.; Navajas, E.A. 2014. Parentesco y consanguinidad molecular en ovinos Criollos en Uruguay, en el V Congreso de la Asociación Uruguaya de Producción Animal, realizado el 3 y 4 de diciembre de 2014, en Montevideo.
4. Pieruccioni, F.; Grasso, N.; Macedo, F.; Ciappesoni, G.; Llambí, S.; Navajas, E.A. 2014. Estudio de la variación genética de los ovinos Criollos del Parque Nacional de San Miguel en base a información genómica, en las III Jornadas de la Sociedad Uruguaya de Genética, realizadas el 7 y 8 de mayo de 2014, en Montevideo.

## 8.2. Presentaciones modalidad póster:

Autora:

1. Pieruccioni, F.; Macedo, F.; Correa, O.; Ciappesoni, G.; Navajas, E.A. 2015. Estudio preliminar de asociación entre marcadores SNP y conteo de huevos por gramo en los ovinos Criollos del Parque Nacional de San Miguel en Uruguay, al XXIV Congreso de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal y XL Congreso de la Sociedad Chilena de Producción Animal, Sochipa. A.G., realizadas del 9 al 13 de noviembre de 2015 en Puerto Varas, Chile.
2. Pieruccioni, F.; Macedo, F.; Ciappesoni, C.G; Navajas, E.A. 2014. Parentesco y consanguinidad molecular en ovinos Criollos en Uruguay, en el V Congreso de la Asociación uruguaya de Producción Animal, realizado el 3 y 4 de diciembre de 2014, en Montevideo.
3. Pieruccioni, F.; Macedo, F.; Ciappesoni, G.; Navajas, E.A. 2014. Consanguinidad molecular en ovinos Criollos uruguayos, el mismo se presentó en la Jornada de Agrobiotecnología, realizada el 30 de octubre de 2014, en Montevideo.

Coautora:

1. Macedo, F.; Pieruccioni, F.; Villanueva, B.; Navajas, E.A. 2015. Uso de información genómica para optimizar apareamientos en ovinos Criollos, al XXIV Congreso de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal y XL Congreso de la Sociedad Chilena de Producción Animal, Sochipa. A.G., realizadas del 9 al 13 de noviembre de 2015 en Puerto Varas, Chile.
2. Macedo, F.; Pieruccioni, F.; Navajas, E.A.; Castells, D.; Ciappesoni, G. 2014. Tramos de homocigosidad en ovinos Corriedale y Merino, en el V Congreso de la Asociación uruguaya de Producción Animal, realizado el 3 y 4 de diciembre de 2014, en Montevideo.
3. Macedo, F.; Pieruccioni, F.; Llambí, S.; Pereira, D.; Navajas, E.A. 2014. Intervalo entre partos en hembras de la población de ovinos Criollos del Parque Nacional de San Miguel, Uruguay. Primeros datos. XV Simposio Iberoamericano sobre Conservación y utilización de los recursos zoo-genéticos de la red CONBIAND, 8,9 y 10 de octubre de 2014 en San Cristóbal de Las Casas, Chiapas, México.
4. Macedo, F.; Navajas, E.A.; Aguilar, I.; Grasso, N.; Pieruccioni, F.; Ciappesoni, G. 2014. New Parentage Testing SNP Panel of Commercial Breed will be Useful Tool for Conservation of Creole Sheep. Del 17 al 22 de Agosto de 2014, en el 10th World Congress of Genetics Applied to Livestock Production, Vancouver, BC, Canada.

## 9. Diversidad genómica en los ovinos Criollos uruguayos

### 9.1. Introducción

La diversidad genética se define como la variedad de genotipos, haplotipos y alelos presentes en una población y condicionan su potencial para evolucionar o mejorar genéticamente (Toro et al., 2014). La conservación de dicha diversidad es fundamental para la conservación de razas ganaderas locales o nativas consideradas como recursos zoogenéticos valiosos por su valor económico, genético, cultural, ambiental, social o histórico (Hiemstra et al., 2010; Boettcher et al., 2010).

El ovino Criollo uruguayo es un recurso zoogenético originado a partir de las poblaciones ovinas introducidas desde el siglo XVI por los españoles, posiblemente de razas autóctonas españolas tales como la Churra, la Manchega, la Rasa y la Canaria. Estas primeras poblaciones ovinas se expandieron por el territorio de América del Sur logrando una buena adaptación a nuestro medio. Los ovinos Criollos fueron posteriormente absorbidos en gran medida por razas especializadas en la producción de lana y carne a través de cruzamientos (Fernández, 2000), lo que llevó a una reducción del tamaño de la población criolla.

La caracterización inicial de los ovinos Criollos indica atributos de interés asociados con su rusticidad, como la ausencia de problemas podales y bajos niveles de parasitosis internas (Fernández y Remedi, 2015). El estudio de las determinantes genéticas que explican estos atributos es de interés para la producción ovina, implicando su conservación ya que está en riesgo de extinción dado su censo limitado (FAO, 2010).

En general, los programas de conservación de poblaciones en peligro de extinción tienen como objetivo mantener altos los niveles de variabilidad genética y limitar el aumento de la consanguinidad ( $F$ ) y de la coascendencia entre individuos ( $f$ ) (Frankham et al., 2002). Dentro de los parámetros más usados para determinar la variabilidad genética se encuentran la heterocigosidad observada ( $H_o$ ) y esperada ( $H_e$ ) (Toro et al., 2014), los cuales están relacionados con la consanguinidad y coascendencia. Un mayor nivel de heterocigosidad indica más variabilidad genética dada su relación directa con  $F$  y  $f$ , ya que  $F = 1 - H_o$  y  $f = 1 - H_e$  (Fernández et al., 2016).

Por otra parte, el censo efectivo ( $N_e$ ) es un parámetro poblacional que determina la tasa a la cual se pierde la variabilidad genética (Falconer y Mackay, 1996). El incremento del  $N_e$  es equivalente a minimizar la tasa de consanguinidad ( $\Delta F$ ) dado que  $\Delta F = 1/2N_e$  (Falconer y Mackay, 1996).

Existen diferentes métodos para estimar  $F$ ,  $f$  y  $N_e$  (Flury et al., 2010). Tradicionalmente, estos parámetros han sido estimados a partir de datos demográficos o genealógicos (Caballero, 1994). Sin embargo, en muchas poblaciones silvestres, esta información no está disponible o es incompleta. En estos casos, se pueden estimar a partir de datos moleculares (Toro et al., 2009). En particular, las nuevas técnicas de genotipado a gran escala generan información de un elevado número de polimorfismos de nucleótido simple (SNP) que puede ser utilizada para estudiar los patrones de variación genética, parentesco y consanguinidad a lo largo del genoma. La mayoría de

las estimaciones del  $N_e$  actual han sido obtenidas utilizando el método temporal, que está basado en los cambios temporales en las frecuencias alélicas para muestras de la misma población recogidas (al menos) en dos puntos temporales diferentes (Nei y Tajima, 1981; Waples, 1989; Wang, 2005). Sin embargo, la disponibilidad de datos de paneles de SNP de alta densidad ha llevado a un creciente interés en el método basado en el desequilibrio de ligamiento (DL), el cual proporciona estimaciones de mayor precisión (Waples y England, 2011; Waples y Do, 2010, Luikart et al., 2010).

Los objetivos del presente estudio fueron estimar i) los niveles de diversidad genética, parentesco y consanguinidad molecular; y ii) los patrones de desequilibrio de ligamiento y el censo efectivo a partir de dichos patrones de la población de ovinos Criollos del Parque Nacional de San Miguel. Los niveles de diversidad genética, parentesco y consanguinidad molecular de esta raza fueron comparados con los obtenidos en Corriedale y Merino.

## **9.2. Material y métodos**

### ***Animales y rebaños***

Los datos utilizados en este estudio corresponden a 187 ovinos Criollos (132 hembras y 55 machos) del Parque Nacional de San Miguel, situado en el departamento de Rocha en Uruguay. Este rebaño se formó por iniciativa del señor Horacio Arredondo (presidente de la Comisión de Conservación y Restauración de Fortaleza de Santa Teresa) en el año 1937, y es administrado por el Servicio de Parques del Ejército. Estos animales corresponden al 65% del rebaño en el año 2015, cuando se inició su caracterización productiva y genética.

También se contó con la información genómica de 108 individuos de la raza Corriedale y de 110 individuos de la raza Merino, la cual estaba disponible en el Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA). Los animales de la raza Corriedale fueron seleccionados de dos líneas divergentes resistente/susceptible a parásitos gastrointestinales del Secretariado Uruguayo de la Lana. La información de Merino corresponde a corderos del Núcleo de Merino Fino que se mantiene en la Estación Experimental INIA en Tacuarembó. En ambas razas, el muestreo consideró minimizar el parentesco entre los animales (Grasso et al., 2014).

### ***Genotipado y control de calidad***

El ADN de los ovinos Criollos, que fuera extraído de sangre, se genotipó con el panel Illumina Ovine Infinium HD SNP BeadChip (606K) en AgResearch Animal Genomics Research Laboratory (Mosgiel, New Zealand). Los animales Merino y Corriedale habían sido genotipados con el panel Illumina OvineSNP50K Genotyping BeadChip, (San Diego, CA) (50K) (Grasso et al., 2014).

El control de calidad tanto para las muestras como para los SNP se basó en los valores del *call rate* (medida de calidad que indica la proporción de genotipos asignados y que varía entre 0 y 1). Este estudio solo consideró las muestras y marcadores que presentaron *call rate* superiores a 95% y 90%, respectivamente. Los SNP no mapeados

según la versión Oar v3.1 del genoma ovino así como aquellos mapeados en los cromosomas sexuales fueron eliminados. El número de muestras de ovino Criollos y de SNP retenidos después del control de calidad fue 171 y 561.777, respectivamente. El control de calidad fue realizado con el programa Golden Helix SNP & Variation Suite (SVS) v.7.6.8 (Golden Helix Inc., Bozeman, MT, EUA).

Los niveles de diversidad genética, parentesco y consanguinidad molecular de las razas Criolla, Corriedale y Merino fueron comparados utilizando los SNP comunes a los chips de 50K y de 606K SNP (que en adelante se denominará chip 50/606K). Los filtros de calidad aplicados a estos datos fueron los mismos que en el caso anterior. El número de animales disponibles para el estudio después del filtrado fue 171, 107 y 104 para las razas Criolla, Corriedale y Merino, respectivamente. El número de SNP empleado en la comparación de razas fue de 41.460.

### *Análisis de datos*

#### **Estimación de la diversidad genética**

La diversidad genética fue evaluada a través de la frecuencia del alelo menor (MAF) y los niveles de heterocigocidad esperada y observada, basados en las frecuencias alélicas. Estos parámetros fueron calculados con el programa Golden Helix SNP & Variation Suite (SVS) v.7.6.8 (Golden Helix Inc., Bozeman, MT, EUA).

Los SNP fueron clasificados en cuatro categorías según el valor de MAF: SNP fijados (MAF = 0), aquellos con alelos raros (MAF ≤ 0,01) y aquellos potencialmente (0,01 < MAF < 0,2) o altamente informativos (0,2 ≤ MAF ≤ 0,5).

#### **Coefficientes de coascendencia y consanguinidad molecular**

El coeficiente de coascendencia molecular ( $f_{SNP}$ ) entre dos individuos  $i$  y  $j$ , se calculó en base a la información de los SNP:

$$f_{SNP\ ij} = (1/L) \sum_{l=1}^L \left[ \left( \sum_{k=1}^2 \sum_{m=1}^2 I_{lk(i)m(j)} \right) / 4 \right]$$

donde  $L$  es el número de SNP y  $I_{lk(i)m(j)}$  es la identidad del alelo  $k$  éximo del animal  $i$  con el alelo  $m$  éximo del animal  $j$  en SNP  $l$  y toma valor de uno si los dos alelos son idénticos o de cero si no lo son.

El coeficiente de consanguinidad molecular para un individuo  $i$  ( $F_{SNP}$ ) se calculó como  $2f_{SNPii} - 1$ ; es decir, como la proporción de genotipos homocigotos (Saura et al., 2013).

Estos parámetros fueron calculados utilizando el software R studio (Ihaka. y Gentleman, 1996).

## Desequilibrio de ligamiento y Tamaño efectivo

El DL se determinó para la raza Criolla utilizando el panel de 606K SNP. Para el cálculo de este se excluyeron los SNP con MAF < 0,01 así como aquellos que se desviaban significativamente del equilibrio Hardy-Weinberg ( $p < 10^{-5}$ ) para tener en cuenta potenciales errores de genotipado. El número total de SNP disponibles para estimar el DL fue 395.802.

El DL se calculó utilizando el coeficiente de correlación entre pares de SNP al cuadrado ( $r^2$ ), utilizando la siguiente fórmula:

$$r^2 = D^2 / p_A p_a p_B p_b$$

donde  $D = p_{AB} - p_A p_B$ ,  $p_{AB}$  es la frecuencia del haplotipo AB y  $p_A$ ,  $p_a$ ,  $p_B$  y  $p_b$  son las frecuencias de los alelos A, a, B y b, respectivamente (Hill y Robertson, 1968). Cuando el  $r^2$  es igual a 1 existe una asociación total entre los alelos y cuando es igual a 0 los loci son estadísticamente independientes.

Los valores de  $r^2$  para todos los pares de SNP sintéticos se calcularon con el software PLINK v1.9 (Purcell et al., 2007), que implementa el algoritmo EM para estimar las frecuencias de los haplotipos. Para ello se utilizaron ventanas deslizantes. El método consiste en definir ventanas de una determinada longitud (20 Mb en este estudio) y estimar el  $r^2$  entre todos los pares de SNP dentro de esa ventana, que se mueve dentro de cada cromosoma un SNP cada vez. De este modo se evita costo computacional innecesario, ya que se espera que los SNP que se encuentran a más de 20 Mb no estén ligados. Para representar los valores de  $r^2$  en función de la distancia entre pares de SNP de una manera clara, se dividió la longitud del cromosoma en cuatro clases de distancia: (i) de 0,0 a 0,50 Mb, (ii) de 0,51 a 1 Mb, (iii) de 1,50 a 5,00 Mb y (iv) de 5,99 a 20,00 Mb. Para cada una de estas categorías, se representó el  $r^2$  promedio para SNP separados 0,01 Mb, 0,1 Mb, 0,5 Mb y 1 Mb, respectivamente, y el valor del  $r^2$  promedio para cada una de estas distancias se graficó en función de la distancia física.

Para determinar en qué medida el grado de los valores del  $r^2$  son en función de la distancia de los SNP, se calculó el DL basal para un conjunto aleatorio de SNP no sintéticos que incluyeron un 1% de los SNP mapeados en cada cromosoma.

## Estimación del Ne

Sved (1971) en base al trabajo de Hill y Robertson (1968) derivó una relación entre el DL y el Ne. Dicha ecuación no tiene en cuenta la mutación ni el tamaño muestral. Si los mismos se consideran se genera la siguiente expresión más general:

$$E [r^2] = (\alpha + 4Nec)^{-1} + 1/N,$$

donde  $\alpha$  es un parámetro relacionado con la tasa de mutación (Hill, 1975; McVean, 2002),  $c$  es la tasa de recombinación y  $1/N$  es el ajuste para el tamaño muestral. Hay que tener en cuenta que  $4Ne$  corresponde a la pendiente y  $\alpha$  es el intercepto de la ecuación de regresión. Para estimar Ne en una determinada generación en el pasado, se consideró el  $r^2$  entre pares de SNP a una determinada distancia de ligamiento en

Morgans (d). Esta distancia da una predicción del tiempo de coalescencia que se espera para los gametos,  $1/(2c)$  generaciones en el pasado (De Roos et al., 2008). Bajo este supuesto, el censo efectivo de la población  $t$  generaciones hacia atrás ( $Ne_{(t)}$ ) se obtuvo utilizando la siguiente fórmula:

$$Ne_{(t)} = (4d)^{-1} [(r^2_d - N^{-1})^{-1} - \alpha],$$

donde  $r^2_d$  es el  $r^2$  promedio para los marcadores separados a una distancia  $d$ , en Morgans (Hill, 1975; McVean, 2002) y  $N$  es el tamaño muestral.

Los cálculos de  $Ne$  fueron realizados con  $\alpha = 2$ , siendo este un valor teórico (McVean, 2002). Cálculos preliminares de  $\alpha$  en base a los datos disponibles resultaron en valores muy alejados del valor teórico, dando lugar a estimaciones pocos fiables de  $Ne$ .

La tasa de recombinación está correlacionada con DL, por lo que estimar ambos parámetros con los mismos datos no es apropiado. Así pues, se utilizaron las tasas de recombinación promedio por cromosoma descritas en Poissant et al. (2010) para la raza ovina Bighorn. Por lo tanto, para cada par de SNP en DL separados por una distancia física (Mb) particular, se obtuvo la distancia de ligamiento (Morgans) equivalente.

La evolución del  $Ne$  se investigó en el período entre el año de la fundación del rebaño (año 1937) y el presente (tres generaciones atrás). Según la teoría de la coalescencia, el tiempo esperado para que los gametos de una muestra determinada encuentren su ancestro común es  $4Ne$  generaciones, por lo que estimar  $Ne$  más allá de  $4Ne$  generaciones no tendría sentido (Charlesworth, 2009). Además, el  $r^2$  entre SNP separados a la distancia genética correspondiente a ese tiempo (distancia física de 20 Mb) ya no era una función de la distancia, como lo demuestran los niveles basales de DL.

### 9.3. Resultados

#### *Frecuencias de los SNP*

Del total de 561.777 SNP, un 28% estaban fijados o presentaron un MAF muy bajo ( $MAF \leq 0,01$ ) en esta raza ovina (Cuadro V), un 30% fueron potencialmente informativos ( $0,01 < MAF < 0,2$ ) y un porcentaje incluso mayor (43%) de SNP fueron altamente polimórficos ( $0,2 \leq MAF \leq 0,5$ ).

**Cuadro V.** Número y porcentaje de SNP para las diferentes categorías de MAF en los ovinos Criollos del Parque Nacional de San Miguel

|                  | Número  | Porcentaje |
|------------------|---------|------------|
| MAF = 0,00       | 134.312 | 23,91      |
| MAF $\leq$ 0,01  | 21.174  | 3,77       |
| 0,01 < MAF < 0,2 | 165.926 | 29,54      |



|                                |         |        |
|--------------------------------|---------|--------|
| $0,2 \leq \text{MAF} \leq 0,5$ | 240.365 | 42,78  |
| <b>Total</b>                   | 561.777 | 100,00 |

### ***Heterocigosidad observada y esperada***

En el Cuadro VI se muestran las  $H_o$  y  $H_e$  promedio en los ovinos Criollos y en las razas comerciales. Las estimaciones de las  $H_o$  y  $H_e$  fueron ligeramente más altas en el caso del panel de menor densidad. A su vez, se observa que las razas comerciales presentaron valores más altos tanto de  $H_o$  como  $H_e$  cuando se comparan con los ovinos Criollos.

**Cuadro VI.** Heterocigosidad observada ( $H_o$ ) y esperada ( $H_e$ ) en los ovinos Criollos y en las razas comerciales

| <b>Panel de SNP</b> | <b>Raza</b> | <b><math>H_o</math></b> | <b><math>H_e</math></b> |
|---------------------|-------------|-------------------------|-------------------------|
| 606K                | Criollos    | 0,237                   | 0,234                   |
| 50/606K             | Criollos    | 0,282                   | 0,276                   |
|                     | Corriedale  | 0,359                   | 0,360                   |
|                     | Merino      | 0,370                   | 0,368                   |

### ***Coefficientes de Coascendencia y Consanguinidad molecular***

En el Cuadro VII se presentan los coeficientes de coascendencia y consanguinidad molecular promedio en los ovinos Criollos, Corriedale y Merino. Comparando los valores de los ovinos Criollos con los de las razas comerciales se evidencia un mayor grado de coascendencia y consanguinidad en los Criollos.

**Cuadro VII.** Coascendencia ( $f_{\text{SNP}}$ ) y consanguinidad ( $F_{\text{SNP}}$ ) molecular en Criollos, Corriedale y Merino

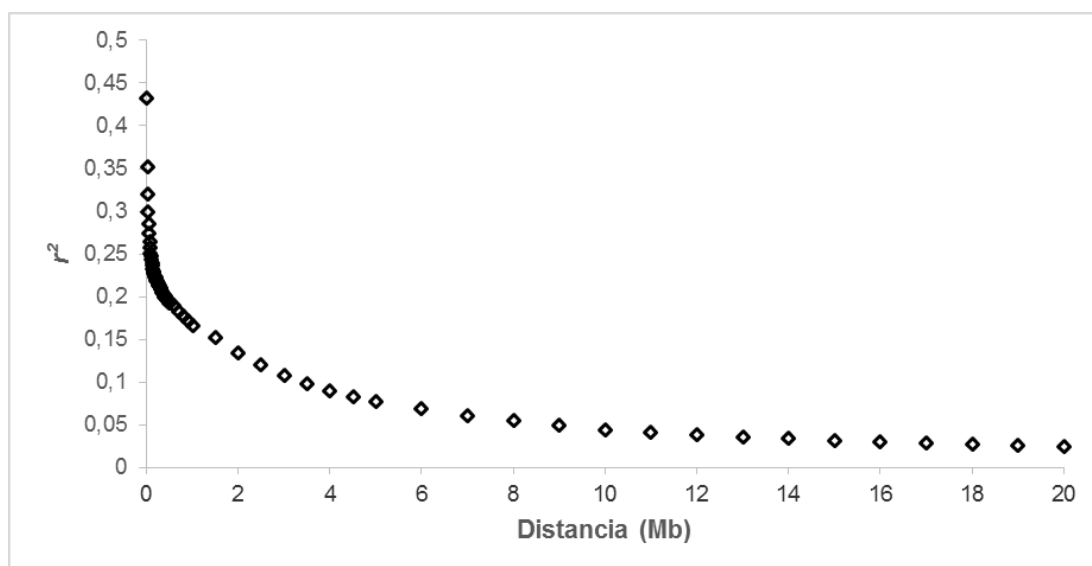
| <b>Panel</b> | <b>Raza</b> | <b><math>f_{\text{SNP}}</math></b> | <b><math>F_{\text{SNP}}</math></b> |
|--------------|-------------|------------------------------------|------------------------------------|
| 606K         | Criollos    | 0,766                              | 0,763                              |
| 50/606K      | Criollos    | 0,723                              | 0,718                              |
|              | Corriedale  | 0,639                              | 0,641                              |
|              | Merino      | 0,632                              | 0,629                              |

### ***Desequilibrio de ligamiento***

La Figura 5 muestra el patrón de disminución de  $r^2$  a medida que aumenta la distancia entre los marcadores para la raza Criolla, utilizando el panel de 606K SNP. El  $r^2$  promedio entre SNP separados a distancias menores de 0,01 Mb fue de 0,43. A partir de este valor elevado, el  $r^2$  disminuyó fuertemente a medida que aumentó la distancia

entre los SNP. El  $r^2$  promedio se redujo a la mitad de su valor máximo en los primeros 0,25 Mb y a niveles no sinténicos/basales ( $r^2 = 0,015$ ) a una distancia mayor de 20 Mb.

En el Cuadro VIII se resume el  $r^2$  promedio por cromosoma y para los cuatro rangos de distancias entre marcadores que fueron definidos. Se evidenció una pequeña variación en el grado de DL entre SNP en los diferentes cromosomas para las distintas distancias. A medida que las distancia aumenta se observa que el  $r^2$  disminuye en todos los cromosomas. El rango del  $r^2$  promedio fue de 0,145 en el cromosoma 17 a 0,208 en el cromosoma 15.



**Figura 5.** Desequilibrio de ligamiento promedio ( $r^2$ ) para todos los cromosomas en función de la distancia física (Mb) entre marcadores

**Cuadro VIII.** Desequilibrio de ligamiento promedio ( $r^2$ ) promedio y para diferentes distancias (Mb) por cromosoma

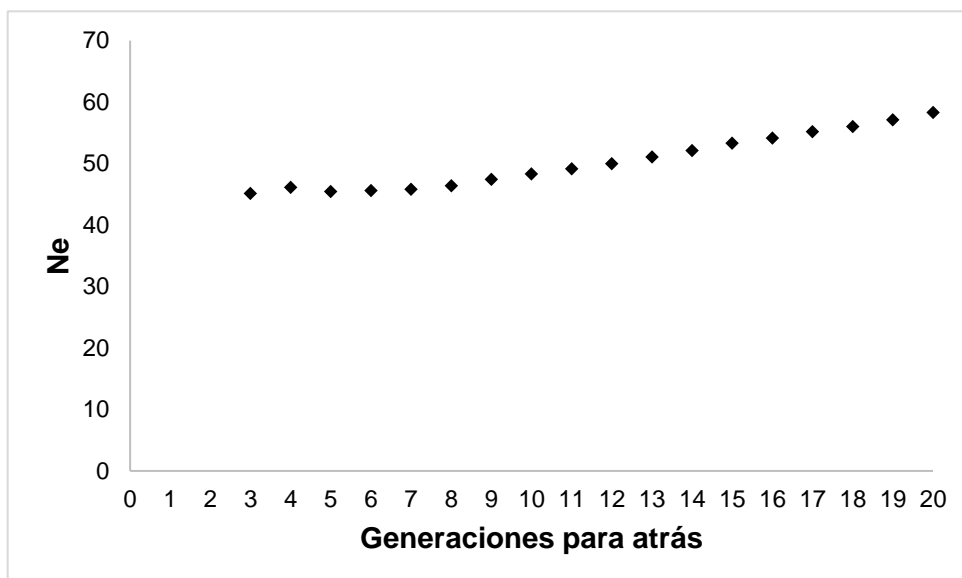
| <b>Cromosoma</b> | <b><math>r^2</math> promedio</b> | <b>0-0,5 Mb</b> | <b>0,6-1 Mb</b> | <b>1,5 -5 Mb</b> | <b>6-20 Mb</b> |
|------------------|----------------------------------|-----------------|-----------------|------------------|----------------|
| <b>1</b>         | 0,180                            | 0,232           | 0,183           | 0,117            | 0,043          |
| <b>2</b>         | 0,194                            | 0,246           | 0,197           | 0,132            | 0,053          |
| <b>3</b>         | 0,189                            | 0,244           | 0,189           | 0,118            | 0,044          |
| <b>4</b>         | 0,180                            | 0,232           | 0,183           | 0,111            | 0,042          |
| <b>5</b>         | 0,190                            | 0,245           | 0,192           | 0,120            | 0,041          |
| <b>6</b>         | 0,200                            | 0,258           | 0,208           | 0,131            | 0,040          |

|           |       |       |       |       |       |
|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|
| <b>7</b>  | 0,168 | 0,216 | 0,167 | 0,105 | 0,040 |
| <b>8</b>  | 0,206 | 0,267 | 0,208 | 0,124 | 0,047 |
| <b>9</b>  | 0,186 | 0,241 | 0,191 | 0,113 | 0,042 |
| <b>10</b> | 0,174 | 0,224 | 0,168 | 0,108 | 0,046 |
| <b>11</b> | 0,177 | 0,233 | 0,175 | 0,101 | 0,033 |
| <b>12</b> | 0,153 | 0,195 | 0,152 | 0,100 | 0,042 |
| <b>13</b> | 0,186 | 0,243 | 0,181 | 0,109 | 0,040 |
| <b>14</b> | 0,191 | 0,251 | 0,192 | 0,107 | 0,036 |
| <b>15</b> | 0,208 | 0,270 | 0,212 | 0,131 | 0,042 |
| <b>16</b> | 0,182 | 0,230 | 0,184 | 0,123 | 0,055 |
| <b>17</b> | 0,145 | 0,190 | 0,143 | 0,084 | 0,031 |
| <b>18</b> | 0,176 | 0,227 | 0,178 | 0,108 | 0,040 |
| <b>19</b> | 0,183 | 0,231 | 0,183 | 0,123 | 0,052 |
| <b>20</b> | 0,147 | 0,192 | 0,143 | 0,080 | 0,032 |
| <b>21</b> | 0,159 | 0,205 | 0,160 | 0,098 | 0,040 |
| <b>22</b> | 0,184 | 0,241 | 0,188 | 0,105 | 0,034 |
| <b>23</b> | 0,175 | 0,225 | 0,178 | 0,111 | 0,041 |
| <b>24</b> | 0,151 | 0,201 | 0,146 | 0,082 | 0,025 |
| <b>25</b> | 0,156 | 0,207 | 0,152 | 0,084 | 0,030 |
| <b>26</b> | 0,162 | 0,214 | 0,163 | 0,087 | 0,030 |

### ***Tamaño efectivo de la población***

La evolución de  $N_e$  en los Criollos en las últimas 20 generaciones se muestra en la Figura 6. Nótese que la generación más reciente corresponde a la nacida en el año 2013.

Los resultados mostraron que el  $N_e$  ha decrecido desde la fundación del rebaño (20 generaciones atrás) hasta nuestros días (Figura 2). Esta disminución supone una reducción del 23% para todo el período considerado. La disminución en  $N_e$  fue más leve en las últimas ocho generaciones, tiempo durante el cual el  $N_e$  parece haberse mantenido prácticamente constante. Se observa un leve aumento en las generaciones más recientes que puede explicarse debido a las medidas de desarrolladas en los últimos años, basadas en excluir los carneros más viejos, quienes serían los padres de la mayoría de los individuos del rebaño



**Figura 6.** Evolución del tamaño efectivo ( $N_e$ ) a lo largo de la historia de la población

#### 9.4. Discusión

Los resultados revelaron una variabilidad genética reducida en los ovinos Criollos, puesto que se observó un alto porcentaje de SNP fijados, un bajo valor de heterocigosidad y altos valores de consanguinidad y parentesco molecular. A su vez, las razas comerciales evaluadas presentaron mayores valores de diversidad genética que los Criollos. También se evidenció un reducido  $N_e$  y un alto DL en los ovinos Criollos. La reducción del  $N_e$  desde la fundación ha sido del 23% y no se detectaron momentos de caída drástica del  $N_e$ .

#### Tipo de marcadores moleculares y estimación de la variabilidad genética

En el pasado, la mayoría de los trabajos enfocados a la determinación de la diversidad genética utilizaban como marcadores los microsatélites, en diferentes especies tales como ganado bovino (Cortés et al., 2011), ovino (Ocampo, 2014) y porcino (Martínez et al., 2007). Recientemente, ha sido posible contar con información genómica proveniente de paneles de alta densidad, que permiten obtener estimaciones más precisas de los parámetros de diversidad genética (Toro et al., 2009).

La mayoría de los estudios realizados en razas ovinas como la Suffolk, Rambouillet (Zhang et al., 2013), Merino, Corriedale (Grasso et al., 2014), Border Leicester, Poll Dorset (Al-Mamun et al., 2015), basados en información genómica, han utilizado el panel de 50K a diferencia del presente trabajo en el que se utilizó un panel de una densidad mucho mayor (chip de 606K SNP). Con el objetivo de comparar la variabilidad genética, el parentesco y la consanguinidad molecular de los Criollos con otras razas comerciales, se construyó un subconjunto de los SNP que comparten los dos paneles.

#### Mínima frecuencia alélica y heterocigosidad observada y esperada en ovinos Criollos

Un primer punto a destacar de nuestros resultados fue el elevado número de SNP fijados (23,9% del total de SNP) en el ovino Criollo. Existen varias causas que pueden explicar este resultado. En primer lugar, esta raza no fue incluida en el desarrollo del panel de 606K. En un estudio previo realizado con diferentes razas, la distribución del MAF varió según el origen geográfico de las mismas (Kijas et al., 2012). Las razas africanas y asiáticas presentaron un gran número de SNP con bajo MAF comparado con las razas derivadas de poblaciones europeas y esto fue atribuido al hecho de que las primeras no se habían utilizado en el descubrimiento de los SNP (Kijas et al., 2012). En segundo lugar, la población de ovino Criollo se ha mantenido cerrada y con un censo reducido desde su fundación, por lo que se espera una variabilidad genética reducida.

Comparando los resultados obtenidos en el rebaño Criollo con los de otras razas ovinas, los Criollos presentaron un mayor porcentaje de SNP fijados. Grasso et al. (2014) encontraron un elevado porcentaje de SNP fijados en 10 ovinos Criollo incluidos en este estudio. Los porcentajes de SNP fijados fueron 1,73%, 2,9% y 26,8%, para Corriedale, Merino y Criollo, respectivamente. Nuestros resultados son coincidentes con los de Grasso et al. (2014) y confirman dichas estimaciones al haber sido realizadas en un número elevado de animales Criollos.

En otro estudio en el que se evaluaron cuatro razas españolas (Castellana, Churra, Ojalada y Aragonesa) genotipadas con el panel de 50K (Gutiérrez et al., 2011), éstas presentaron un bajo porcentaje de SNP de baja frecuencia (1,5 a 2,4 %) y un elevado número de marcadores altamente polimórficos (46,5 a 50,6%). A pesar de que las razas estudiadas son razas locales, presentaron una significativa menor incidencia de marcadores con poca variabilidad en comparación con los ovinos Criollos. Las frecuencias de los SNP en Criollos indican que existe una variabilidad genética remanente la cual se expresa en un 42,78% de SNP altamente informativos. Este porcentaje está apenas por debajo de los encontrados en las razas españolas (Gutiérrez et al., 2011) y las razas comerciales Corriedale (50,1%) y Merino (50,9%) (Grasso et al., 2014).

La variabilidad genética en las tres razas evaluadas reveló una diversidad genética moderadamente reducida. Los valores de la heterocigosidad observada y esperada en ovinos Criollo fueron bajos y bastante similares entre sí. En un estudio previo se demostró que la heterocigosidad observada y esperada en poblaciones de Merino y Corriedale (Grasso et al., 2014), fueron similares y bajas entre ellas, pero más elevadas que en los Criollos, lo que coincide con los resultados obtenidos en el presente trabajo. En general, los valores de diversidad genética en los ovinos Criollos son menores a los obtenidos en otras razas genotipadas con similar densidad de SNP, como se observó en el trabajo de Kijas et al. (2014) quienes obtuvieron valores entre 0,319 a 0,336 en razas Merino, Poll Dorset, Suffolk y Border Leicester.

Nuestros resultados coinciden con los de una población de ovinos de la raza Soay genotipados con un panel de 50K (0,223) obtenidos en un grupo aislado en las islas escocesas con un bajo censo efectivo (Kijas et al., 2009; Feulner et al., 2013).

## Coascendencia y consanguinidad molecular

Los coeficientes moleculares estimados con un gran número de marcadores moleculares son buenos predictores de los coeficientes genealógicos (Saura et al., 2013). Esto permite obtener dichos coeficientes con precisión en poblaciones en donde no se cuenta con los registros de genealogía.

En los ovinos Criollos los coeficientes de coascendencia y consanguinidad molecular fueron altos, lo que concuerda con los valores de heterocigosidad observada y esperada obtenidos. Al comparar los resultados con las razas comerciales, los Criollos presentaron mayores valores.

Si bien, no se cuenta con información acerca de la estimación de la coascendencia y la consanguinidad molecular como se realizó en esta tesis en razas ovinas, si se calcularon en los cerdos ibéricos (Saura et al., 2013) y en una población española de ganado Holstein (Kleinman-Ruiz et al., 2016). Estos autores concluyen que de esta forma se pueden determinar dichos coeficientes de forma precisa, en todo el genoma y por cromosomas. Esto permitiría detectar diferentes regiones cromosómicas, proporcionando más detalle de la diversidad genética y actuar de forma más específica en el control de la coascendencia y consanguinidad (Gómez-Romano et al., 2014).

## Desequilibrio de ligamiento y tamaño efectivo

El  $r^2$  promedio para todos los pares de SNP y cromosomas fue de 0,177. Este valor es superior a estimaciones realizadas en otras razas ovinas como las razas de leche sicilianas que presentaron valores entre 0,128 y 0,156 (Mastrangelo et al. 2014) y en la raza Churra con 0,011 (García-Gámez et al. 2012).

Además, los ovinos Criollos presentaron elevados niveles de DL (0,432) a distancias cortas (<10 kb) y una rápida caída a medida que la distancia entre SNP se incrementa. Los niveles de DL a distancias próximas entre SNP son elevados en los ovinos Criollos en relación con los reportado en otras razas ovinas. La disminución del valor de  $r^2$  máximo a la mitad se evidenció a una distancia física de 2500 kb ( $r^2 = 0,216$ ) y presentaron valores de  $r^2$  de 0,314 para SNP entre 200 a 500 kb, mientras que SNP separados por >20000 kb mostraron un promedio de  $r^2$  igual a 0,015. García-Gámez et al. (2012) obtuvieron estimaciones de DL promedio menores (0,329) a distancias de 10 kb con una caída de su valor máximo a la mitad en el rango de 40-60 kb ( $r^2 = 0,152$ ) y de 0,061 para SNP separados a 200 a 500 kb. En otro estudio, en Merino, Poll Dorset, Suffolk y Border Leicester, los valores de  $r^2$  a una distancia de 10 kb fueron menores (0,191, 0,279, 0,221 y 0,339, respectivamente).

La mayoría de las razas ovinas presentan valores de  $r^2$  para distancia menor a 10 kb más bajos que los ovinos Criollos, salvo la raza Soay, raza mantenida en una isla St. Kilda de Escocia, que presentó un valor de 0,4 y la caída de la curva del DL muestra valores persistentemente altos (Kijas et al., 2014).

En los Criollos el promedio del  $r^2$  por cromosoma varió entre 0,145 en el cromosoma 17 a 0,208 en el 15. El valor promedio del  $r^2$  para SNP separados hasta 500 kb con un

rango de 0,27 para los cromosomas 8 y 15 a 0,19 en los cromosomas 17 y 20. Estos resultados podrían ser atribuidos a la tasa de recombinación que varía entre y dentro de los cromosomas, diferencias en la longitud de los cromosomas, heterocigosidad, deriva genética y a un efecto de selección (Qanbari et al., 2010). Zhao et al. (2014) quienes estudiaron el  $r^2$  por cromosoma en las razas Sunite German Mutton y Dorper, donde varió de 0,10 a 0,15, 0,16 a 0,22 y 0,20 a 0,25, respectivamente. Estas diferencias las atribuyen a los diferentes procesos en la formación de las razas, como es la selección y los cruzamientos.

Se debe tener en cuenta que el grado de DL no siempre es comparable entre los diferentes estudios debido a que se utilizan distintas medidas de DL y tipos y densidad de marcadores y distribución, y estructura de la población (Qanbari et al., 2010).

Los mayores niveles de DL se atribuyen a bajos tamaños efectivos (Hill y Robertson, 1966). El  $N_e$  estimado en la raza Criolla en el año de formación del rebaño (año 1937) fue de 58 animales y ha disminuido un 23% desde entonces (hasta tres generaciones atrás). Es de destacar que el  $N_e$  de los ovinos Criollos no ha sufrido una reducción drástica desde la fundación del rebaño hasta la actualidad. El bajo  $N_e$  estimado es esperable teniendo en cuenta que el rebaño fue creado con un número pequeño de fundadores y se mantuvo cerrado.

Las únicas estimaciones previas de  $N_e$  para Criollos corresponden a Criollos de la región semiárida de Formosa, donde  $N_e$  fue igual a 2448, estima obtenida a partir del número de machos y hembras presentes en los rebaños estudiados (De la Rosa et al., 2012) y a los Criollos Brasileños para los que  $N_e$  fue igual a 371 (Kijas et al., 2012). En otros estudios en ovinos los valores fueron mayores que en los ovinos Criollos. Al-Mamun et al. (2015) reportaron  $N_e$  de 140, 152 y 348 para Border Leicester, Poll Dorset y Merino, respectivamente. Por otra parte, en la raza Churra española el  $N_e$  fue igual a 128 (García-Gómez et al., 2012), en las razas de ovinos Welsh las estimaciones estuvieron en el rango de 88 a 825 (Kominakis et al., 2017) y en la raza Frizarta fue de 190 (Beynon et al. (2015). El  $N_e$  está inversamente relacionado con la tasa a la cual se pierde la variabilidad genética. Si  $V_a$  es la varianza genética existente en una generación en particular, entonces la cantidad que se pierde en la próxima generación será igual a  $(1/2 N_e) V_a$  (Falconer y Mackay, 1996). Por ello, el  $N_e$  es utilizado por la FAO para evaluar el estado de riesgo de las poblaciones (FAO, 2010).

En la domesticación de las ovejas es probable que hayan participado una muestra genéticamente amplia de ancestros salvajes, y los cuellos de botella genéticos posteriores asociados a la formación de los ovinos han sido menos severos que para la mayoría de los otros animales domesticados (Kijas et al. 2012). Para los bovinos, existe evidencia de que  $N_e$  era grande antes de la domesticación. Sin embargo, los  $N_e$  actuales en algunas razas modernas son del orden de 100. Por ejemplo, los obtenidos con información molecular en la población de española de vacuno Holstein que están entre 66 y 79 (Rodríguez-Ramillo et al., 2015). El bajo  $N_e$  que se evidencia en el ganado Holstein, refleja el hecho de que las estrategias de mejoramiento han implicado el uso de pocos toros como el amplio uso de la inseminación artificial.

Teniendo en cuenta todos los resultados recabados en este estudio y partiendo de la base que la población estudiada es una población fundada con un número pequeño de

reproductores, se refuerza la necesidad de evitar la pérdida de variabilidad y el aumento de la consanguinidad (de Cara et al., 2011; Saura et al., 2013). Una de las formas sería considerar estrategias de apareamiento en base a un correcto registro de las genealogías, pero como no se cuenta con esa información en los Criollos, se puede optar por la información genómica, y así optimizar los apareamientos. El minimizar el parentesco lleva consigo asociado el control de la consanguinidad, lo que resulta clave en los programas de conservación (Gómez-Romano, 2015).

## 9.5. Conclusiones

Los resultados obtenidos en el presente estudio permitieron cuantificar el nivel de diversidad genética en base a la información molecular en los ovinos Criollos. Se evidenció una baja variabilidad genética expresada en un alto porcentaje de SNP fijados, bajos valores de heterocigosidad esperada y observada, altos valores de los coeficientes de consanguinidad y parentesco molecular. Estos resultados son coincidentes con el reducido  $N_e$  de esta población, la cual se ha mantenido cerrada.

La evolución del  $N_e$  desde su fundación, estimado a partir del DL, indica que se partió de una población reducida, pero en la cual la disminución de  $N_e$  ha sido gradual. A pesar de que la tendencia en las últimas generaciones indica que la pérdida de variabilidad se ha enlentecido, estos resultados remarcan la importancia de establecer pautas para la elaboración de un plan de conservación.

## 9.6. Bibliografía

1. Al-Mamun, H. A., A Clark, S., Kwan, P., Gondro, C. (2015). Genome-wide linkage disequilibrium and genetic diversity in five populations of Australian domestic sheep. *Genet. Sel. Evol.*, 47:90. <https://doi.org/10.1186/s12711-015-0169-6>
2. Anderson, R., McEwan, J., Brauning, R; Kijas, J; Dalrymple, B. (2014). Development of a High Density (600K) Illumina Ovine SNP Chip and Its Use to Fine Map the Yellow Fat Locus. *Plant and Animal Genome XXII*. San Diego, C.A.
3. Beynon, S.E., Slavov, G.T., Farre, M.S., Waddams, K., Davies, B., Haresign, W., Kijas, J., MacLeod, I.M., Newbold, C.J., Davies, L., Larkin, D.M. (2015). Population structure and history of the Welsh sheep breeds determined by whole genome genotyping. *BMC Genet.*, 16:65.
4. Boettcher, P. J., Tixier-Boichard, M., Toro, M. A., Simianer, H., Eding, H., Gandini, G., Ajmone-Marsan, P., GLOBALDIV Consortium. (2010). Objectives, criteria and methods for using molecular genetic data in priority setting for conservation of animal genetic resources. *Anim. Genet.*, 41:64-77. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2010.02050.x>
5. Caballero, A. (1994). Developments in the prediction of effective population size. *Heredity*, 73:657–79.



6. Cortés, O., Tupac-Yupanqui, I., García-Atance, M.A., Dunner, S. , Fernández, J. y Cañón, J. (2011). Análisis de la variabilidad genética de origen paterno en la raza bovina de Lidia. *Arch. Zootec.*, 60 (231): 417-420.
7. de Cara, M. A. R., Fernández, J., Toro, M. A., Villanueva, B. (2011). Using genome-wide information to minimize the loss of diversity in conservation programmes. *J. Anim. Breed. Genet.*, 128:456–464. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0388.2011.00971.x>
8. De la Rosa, S. A., Revidatti, M. A., Tejerina, E. R., Orga, A., Capello, J. S., Petrina, J. F. (2012). Estudio para la caracterización de la oveja criolla en la región semiárida de Formosa, Argentina. *Revista AICA*, (2) 87-94.
9. De Roos, A.P.W, Hayes, B.J., Spelman, R.J., Goddard, M.E. (2008). Linkage disequilibrium and persistence of phase in Holstein–Friesian, Jersey and Angus cattle. *Genetics*, 179(3), 1503–1512. <https://doi.org/10.1534/genetics.107.084301>
10. Frankham, R., Ballou, J., Briscoe, D. (2002). *Introduction to conservation genetic*. 1th ed. United Kingdom, University Press Cambridge.
11. Falconer, D.S., Mackay, T.F.C. (1996). *Introduction to Quantitative Genetics*. 4th ed. Harlow, UK: Pearson Education Limited.
12. FAO. (2010). La situación de los recursos zoogenéticos mundiales para la alimentación y la agricultura, (disponible en <http://www.fao.org/docrep/011/a1250s/a1250s00.htm>) (traducción de la versión original en inglés, 2007).
13. Fernández, G. (2000). Situación de los recursos genéticos domésticos locales del Uruguay. *Arch. Zootec.*, ISSN 0004-0592, (49), 187:333-340.
14. Fernández, M.P., Remedi, M.A. (2015). Estudio epidemiológico parcial de las helmintiasis gastrointestinales en un rebaño de ovinos Criollos del este del país. Tesis de grado, Facultad de Veterinaria, Uruguay.
15. Fernández, J., Toro, M. A., Gómez-Romano, F., Villanueva, B. (2016). The use of genomic information can enhance the efficiency of conservation programs. *Animal Frontiers*, 6(1):59-64. <https://doi.org/10.2527/af.2016-0009>
16. Feulner, P. G. D., Gratten, J., Kijas, J. W., Visscher, P. M., Pemberton, J. M., Slate, J. (2013). Introgression and the fate of domesticated genes in a wild mammal population. *Mol. Ecol.*, 22(16), 4210–4221. <https://doi.org/10.1111/mec.12378>
17. Flury, C., Tapio, M., Sonstegard, C., Drogemuller, C., Leeb, T., Simianer, H., Hanotte, O., Rieder, S. (2010). Effective population size of an indigenous Swiss cattle breed estimated from linkage disequilibrium. *J. Anim. Breed. Genet.*, 127:339–347.

18. García-Gómez, E., Sahana, G., Gutiérrez-Gil, B., Arranz, J.-J. (2012). Linkage disequilibrium and inbreeding estimation in Spanish Churra sheep. *BMC Genet.*, 13(1), 43. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-13-43>
19. Gómez-Romano, F., Sölkner, J., Villanueva, B., Mészáros, G., de Cara, M.A.R., Pérez O'Brien, A.M., Fernández, J. (2014). Genomic estimates of inbreeding and coancestry in Brown Swiss cattle. *Proceedings of the 10th World Congress of Genetics Applied to Livestock Production*. 17–22 August, Vancouver, Canadá.
20. Gómez-Romano, F. (2015). Gestión de la diversidad genética en programas de conservación utilizando datos de genotipado masivo. Tesis doctoral Universidad Complutense de Madrid Facultad de Ciencias Biológicas Departamento de Genética. <http://eprints.ucm.es/32997/1/T36340.pdf>
21. Grasso, A. N., Goldberg, V., Navajas, E. A., Iriarte, W., Gimeno, D., Aguilar, I., Medrano, J.F, Rincón, G., Ciappesoni, G. (2014). Genomic variation and population structure detected by single nucleotide polymorphism arrays in Corriedale, Merino and Creole sheep. *Genet. Mol. Biol.*, 37(2), 389–395. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572014000300011>
22. Gutiérrez-Gil, B., García-Gómez, E., Suárez-Vega, A., Sánchez, J.P., Kijas, J., Calvo, J.H., International Sheep Genomics Consortium (ISGC), Arranz J.J. (2011). Análisis de la utilidad para estudios genómicos del “Illumina Ovine SNP 50BeadChip” en razas ovinas españolas. [http://acteon.webs.upv.es/CONGRESOS/AIDA%202011/Gutierrez-Gil\\_AIDA2011.pdf](http://acteon.webs.upv.es/CONGRESOS/AIDA%202011/Gutierrez-Gil_AIDA2011.pdf)
23. Hiemstra, S.J., de Haas, Y., Maki Tanila, A., Gandini, G. (2010). Local cattle breeds in Europe. Development of policies and strategies for self-sustaining breeds. First published. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands.
24. Hill, W.G., Robertson, A. (1966). The effect of linkage on limits to artificial selection. *Genetical Research*, 8:269-294.
25. Hill, W.G., Robertson, A. (1968) Linkage disequilibrium in finite populations. *Theor. Appl. Genet.*, 38:226–31.
26. Hill, W. G. (1975). Linkage disequilibrium among multiple neutral alleles produced by mutation in finite population. *Theor. Popul. Biol.*, 8(2):117–126. [https://doi.org/10.1016/0040-5809\(75\)90028-3](https://doi.org/10.1016/0040-5809(75)90028-3)
27. Ihaka, R., Gentleman R. (1996). R: a language for data analysis and graphics. *J. Comput. Graph. Stat.*, 5: 299–314.
28. Kijas, J. W., Townley, D., Dalrymple, B. P., Heaton, M. P., Maddox, J. F., McGrath, A., Wilson, P., Ingersoll, R.G., McCulloch, R., McWilliam, S., Tang, D.,

- McEwan, J., Cockett, N., Hutton Oddy, V., Nicholas, F.W., Raadsma, H. (2009). A genome wide survey of SNP variation reveals the genetic structure of sheep breeds. *PLOS ONE*, 4(3), e4668. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004668>
29. Kijas, J. W., Lenstra, J. A., Hayes, B., Boitard, S., Neto, L. R., Cristobal, M. S., Servin, B., McCulloch, R., Whan, V., Gietzen, K., Piva, S., Barendse, W., Ciani, E., Raadsma, H., McEwan, J., Dalrymple, B. (2012). Genome-wide analysis of the world's sheep breeds reveals high levels of historic mixture and strong recent selection. *PLOS Biol.*, 10(2): e1001258.
  30. Kijas, J. W., Porto-Neto, L., Dominik, S., Reverter, A., Bunch, R., McCulloch, R., Hayes, B.J., Brauning, R., McEwan, J. (2014). Linkage disequilibrium over short physical distances measured in sheep using a high-density SNP chip. *Anim. Genet.*, 45(5):754–757. <https://doi.org/10.1111/age.12197>
  31. Kleinman-Ruiz, D., Villanueva, B., Fernández, J., Toro, M.A., García-Cortés, L.A., Rodríguez-Ramilo, S. T. (2016). Intra-chromosomal estimates of inbreeding and coancestry in the Spanish Holstein cattle population. *Livest. Sci.*, 185:34–42.
  32. Kominakis, A., Hager-Theodorides, A.L., Saridaki, A., Antonakos, G., Tsiamis, G. (2017). Genome-wide population structure and evolutionary history of the Frizarta dairy sheep. *Animal. The Animal Consortium. Animal*, 1-9. [doi:10.1017/S1751731117000428](https://doi.org/10.1017/S1751731117000428)
  33. Luikart, G., Ryman, N., Tallmon, D.A., Schwartz, M.K., Allendorf, F.W. (2010). Estimation of census and effective population sizes: the increasing usefulness of DNA- based approaches. *Conserv. Genet.*, 11:355–73.
  34. Martínez, A., Quiroz, J., Marques, J., Delgado, J. (2007). Estudio de la diversidad genética del cerdo negro Canario con microsatelites de ADN. *Arch. Zootec.*, 56 (1): 425 – 428.
  35. Mastrangelo, S., Di Gerlando, R., Tolone, M., Tortorici, L., Sardina, M. T., Portolano, B. (2014). Genome wide linkage disequilibrium and genetic structure in Sicilian dairy sheep breeds. *BMC Genet.*, 15(108)1471-2156. <https://doi.org/10.1186/s12863-014-0108-5>.
  36. McVean, G.A.T. (2002). A genealogical interpretation of linkage disequilibrium. *Genetics*, 162:987–91.
  37. Nei, M., Tajima F. (1981). Genetic drift and estimation of effective population size. *Genetics*, 98:625–40.
  38. Ocampo, R. J. (2014). Caracterización Genética de ovinos en Colombia por medio de marcadores microsatelites. Tesis de maestría, Universidad de Antioquia, Colombia.
  39. OvineSNP50 Datasheet - Illumina. (2010). OvineSNP50 DNA Analysis. [http://www.illumina.com/products/ovinesnp50\\_dna\\_analysis\\_kit.ilmn](http://www.illumina.com/products/ovinesnp50_dna_analysis_kit.ilmn)

40. Poissant, J., Hogg, J. T., Davis, C. S., Miller, J. M., Maddox, J. F., Coltman, D. W. (2010). Genetic linkage map of a wild genome: genomic structure, recombination and sexual dimorphism in bighorn sheep. *BMC Genomics*, 11 (524): 1471-2164.
41. Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M. A. R., Bender, D. (2007). PLINK: a toolset for whole-genome association and population based linkage analysis. *Am. J. Hum. Genet.*, 81(3):559-575.
42. <https://doi.org/10.1086/519795>
43. Qanbari, S., Pimentel, E.C.G., Tetens, J., Thaller, G., Lichtner, P., Sharifi, A.R., Simianer, H. (2010). The pattern of linkage disequilibrium in German Holstein cattle. *Anim. Genet.*, 41:346–356.
44. Saura, M., Fernandez, A., Rodriguez, M. C., Toro, M. A., Barragan, C., Fernández, A. I., Villanueva, B. (2013). Genome-wide estimates of coancestry and inbreeding in a closed herd of ancient Iberian pigs. *PLOS ONE*, 8(10):e78314. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078314>
45. Sved, J.A. (1971) Linkage disequilibrium and homozygosity of chromosome segments in finite populations. *Theor. Popul. Biol.*, 2:125–41.
46. Rodríguez-Ramilo, S. T., Fernández, J., Toro, M. A., Hernández, D., & Villanueva, B. (2015). Genome-Wide estimates of coancestry, inbreeding and effective population size in the spanish holstein population. *PLOS ONE*, 10(4):1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124157>
47. Toro, M., Fernández, J., Caballero, A. (2009). Molecular characterization of breeds and its use in conservation. *Livest. Sci*, 120:174–195.
48. Toro, M. A., Villanueva, B., Fernández, J. (2014). Genomics applied to management strategies in conservation programmes. *Livest. Sci.*, 166:48-53. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2014.04.020>
49. Wang, J. (2005). Estimation of effective population sizes from data on genetic markers. *Phil Trans R Soc.*, 360:1395–409.
50. Waples, R.S. (1989). A generalized approach for estimating effective population size from temporal changes in allele frequency. *Genetics*, 121: 379-391.
51. Waples, R.S., Do, C. (2010). Linkage disequilibrium estimates of contemporary Ne using highly variable genetic markers: a largely untapped resource for applied conservation and evolution. *Evol. Appl.*, 3:244–62.
52. Waples, R., England, P.R. (2011). Estimating contemporary effective population size on the basis of linkage disequilibrium in the face of migration. *Genetics*, 189:633–44.

53. Zhang, L., Liu, J., Zhao, F., Ren, H., Xu, L., Lu, J., Zhang, S., Zhang, X., Wei, C., Lu, G., Zheng, Y., Du, L. (2013). Genome-Wide Association Studies for Growth and Meat Production Traits in Sheep. *PLoS ONE*, 8(6). <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0066569>
54. Zhao, F.P., Wang, G.K., Zeng, T., Wei, C.H., Zhang, L., Wang, H.H., Zhang, S.Z., Liu, R.Z., Liu, Z., Du, L.X. (2014). Estimations of genomic linkage disequilibrium and effective population sizes in three sheep populations. *Livest. Sci.*, 170:22–29.

## 10. Comparación de razas ovinas comerciales y criollas a través de tramos de homocigosidad determinados con dos paneles de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) de densidades diferentes

### 10.1. Introducción

Los tramos de homocigosidad (ROH, del inglés *Runs of Homozygosity*) son segmentos de genotipos homocigotos que están presentes en un individuo y que resultan del hecho de que los padres transmiten haplotipos idénticos a su descendencia (Gibson et al., 2006). Fueron identificados por primera vez en el genoma humano en 1999 (Broman y Weber et al., 1999) y se han utilizado para estimar la consanguinidad en distintas especies ganaderas tales como bovinos (Sölkner et al., 2010), porcinos (Bosse et al., 2012), equinos (Khanshour et al., 2013), caprinos (Guangul, 2014) y ovinos (Al-Mamun et al., 2015). La habilidad de los ROH para revelar información sobre los eventos genéticos recientes o lejanos los hace útiles para analizar la historia de una población (Ferenčaković et al., 2013b) y distinguir entre consanguinidad de origen reciente o remota. Debido a que los eventos de recombinación interrumpen los segmentos cromosómicos largos a través del tiempo, se espera que los ROH largos sean segmentos homocigotos originados de ancestros comunes recientes. Por el contrario, es probable que los ROH cortos se originen de ancestros más remotos (Purfield et al., 2012; Ferenčaković et al., 2013b; Bjelland et al., 2013).

Existen varios softwares que permiten la identificación de los ROH (Howrigan et al., 2011): PLINK (Purcell et al., 2007), GERMLINE (Gusev et al., 2009), BEAGLE (Browning y Browning, 2009), Golden Helix SNP & Variation Suite (SVS) v.7.6.8 (Golden Helix Inc., Bozeman, MT, EUA) y cagTOH (Zhang et al., 2013). Hasta el momento, el programa utilizado con mayor frecuencia es el PLINK y su metodología se basa en una ventana deslizante a la que se le ajusta el tamaño en número de SNP o en kb. La misma se desliza a lo largo del genoma de un individuo y determina la homocigosidad en cada una (Howrigan et al., 2011). Si bien, diferentes estudios han utilizado la metodología basada en ROH para determinar la consanguinidad (Szpiech et al., 2013), un inconveniente recurrente es la falta de acuerdo al establecer los valores umbrales de los criterios que definen un ROH a partir de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) (Ku et al., 2011). Criterios tales como el número mínimo de SNP en el ROH, el número de genotipos heterocigotos y de genotipos faltantes que se permiten dentro de un ROH, la mínima longitud en kb, mínima densidad de SNP y máximo gap entre dos SNP homocigotos consecutivos, van a influir en los resultados finales de las estimaciones.

La densidad del panel de SNP utilizado para generar los datos para los análisis de ROH afectaría la identificación de los ROH. Esto se explica ya que la mínima longitud de los ROH que se puede llegar a detectar va a depender de la densidad del panel utilizada. Hasta el momento los trabajos que han evaluado el efecto de la densidad del panel con respecto a la mínima longitud de ROH que permiten detectar, concluyeron que los paneles de SNP de 50K solo serían apropiados para identificar ROH de más de 5 Mb (Purfield et al., 2012). Sin embargo, paneles de densidades mayores mejorarían las

estimaciones de los ROH detectando ROH de menores longitudes, mejorando su resolución y reduciendo errores (Hillestad et al., 2015).

Los controles de calidad como son el *'call rate'*, las desviaciones del equilibrio Hardy Weinberg (HWE) y la mínima frecuencia alélica (MAF) suelen diferir entre los estudios y sus resultados afectarán los análisis. La eliminación de los SNP con baja MAF es un procedimiento común en la preparación de los genotipos para los análisis de ROH (Ferenčaković et al., 2013b). Sin embargo, se debe tener en cuenta que mientras el *'call rate'* y HWE pueden estar relacionados con errores técnicos del genotipado, los SNP de baja MAF son atributos propios de la población. En consecuencia, se considera que dichos SNP deberían ser incluidos de forma de mantener la mayor cantidad de información genómica que contribuirá a tener una mejor distribución de la homocigosidad en el genoma (Hillestad et al., 2015).

Los objetivos de este estudio fueron identificar y caracterizar los patrones de ROH en los ovinos Criollos considerando criterios para los dos paneles de SNP (50K y 606K) que permitan resultados similares entre ambos. Comparar los patrones de ROH con los de las razas ovinas comerciales, Merino y Corriedale. A su vez, evaluar y comparar los niveles de consanguinidad genómica basados en los ROH y por el coeficiente de consanguinidad SNP-por-SNP en las tres razas ovinas.

## **10.2. Materiales y métodos**

### ***Animales y razas***

Se analizó la información proveniente de tres razas ovinas: Criollos (n=187), Corriedale (n=108) y Merino (n=110). Los ovinos Criollos pertenecían a una población de censo reducido en riesgo de extinción localizados en el Parque Nacional de San Miguel, Uruguay. Los ovinos Corriedale correspondían a dos líneas divergentes seleccionadas por susceptibilidad/resistencia a parásitos gastrointestinales del Centro de Investigación Doctor Alberto Gallinal, estación de investigación de la Secretaría Uruguaya de la Lana (SUL). Por su parte, los Merinos formaban parte del Núcleo Merino Fino mantenido en la Estación Experimental Tacuarembó del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) de Uruguay (Grasso et al., 2014).

### ***Genotipado y control de calidad***

Los animales Criollos fueron genotipados con el panel *Illumina Ovine Infinium HD SNP BeadChip* (606K) (Anderson et al., 2014). A partir de este genotipado, se identificaron los SNP presentes en el panel *Illumina OvineSNP50 BeadChip* (50K) con el cual habían sido genotipados los animales de las razas Corriedale y Merino (Grasso et al., 2014). Se analizaron los genotipos de los SNP comunes entre paneles, previamente identificados en los Criollos, a los efectos de hacer comparables los resultados entre las tres razas.

El control de calidad se basó en los valores de ‘call rate’ por muestra y por SNP. Se eliminaron las muestras que presentaron un ‘call rate’ mayor al 95% y los SNP con ‘call rate’ mayor del 90%. Se consideraron sólo marcadores autosómicos mapeados según la versión Oar v3.1 del genoma ovino. No se excluyeron los SNP con baja MAF ni aquellos con alto desequilibrio de ligamiento con SNP cercanos ni aquellos los que se desviaban del equilibrio Hardy-Weinberg (Hillested et al., 2015).

Los números de animales disponibles para el estudio, después del control de calidad fueron 171, 107, 104 para las razas Criolla, Corriedale y Merino, respectivamente. El número de SNP empleado en la comparación de razas con el panel de 50K y con el panel 606K fue de 41.460 y 561.777, respectivamente.

### ***Tramos de homocigosis***

Los ROH se definieron para todos los individuos de las tres razas estudiadas usando PLINK v.1.9 (Purcell et al., 2007). Este software considera una ventana de determinado número de SNP, la cual se desliza a través del genoma, estimando el grado de homocigosis en cada una. Se ajustaron ventanas de 25 y 50 SNP para los paneles de 50K y 606K, respectivamente.

El panel más utilizado hasta el momento en los estudios genómicos en ovinos es el de 50K SNP. Considerando que en este trabajo se cuenta con la información del panel de 606K para los ovinos Criollos, se establecieron los criterios para definir un ROH de forma independiente para cada panel (Cuadro IX). Esto se realizó en forma empírica con el objetivo de obtener números de ROH y  $F_{ROH}$  similares entre ambos.

En Cuadro X se detallan el número de SNP heterocigotos y con genotipos faltantes que fueron permitidos para cada una de las longitudes mínimas en los dos paneles.

**Cuadro IX.** Criterios utilizados para la identificación de los ROH para el panel de 50K y 606K SNP

| <b>Criterio</b>                                   | <b>Panel 606K</b>    | <b>Panel 50K</b>      |
|---|----------------------|-----------------------|
| Mínima densidad de SNP                            | 1 SNP por cada 50 kb | 1 SNP por cada 100 kb |
| Número mínimo de SNP                              | 60                   | 30                    |
| Máximo gap entre dos SNP homocigotos consecutivos | 500 kb               | 1000 kb               |

**Cuadro X.** Número de SNP con genotipos heterocigotos ( $N_{het}$ ) y con genotipos faltantes ( $N_{fal}$ ) permitidos en un ROH según la longitud mínima del ROH para ambos paneles de SNP

| <b>Panel</b> | <b>Criterio</b> | <b>Longitud mínima del ROH (Mb)</b> |   |    |    |    |    |    |    |    |    |
|--------------|-----------------|-------------------------------------|---|----|----|----|----|----|----|----|----|
|              |                 | 2                                   | 4 | 6  | 8  | 10 | 12 | 14 | 16 | 18 | 20 |
| 606K         | $N_{het}$       | 1                                   | 2 | 4  | 4  | 8  | 8  | 8  | 8  | 16 | 16 |
|              | $N_{fal}$       | 4                                   | 8 | 16 | 16 | 32 | 32 | 32 | 32 | 64 | 64 |
| 50K          | $N_{het}$       | 1                                   | 1 | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  |



|  |                  |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|--|------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
|  | N <sub>fal</sub> | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 4 | 4 |
|--|------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|

### ***Estimación del coeficiente de consanguinidad genómico basado en ROH***

El coeficiente de consanguinidad basado en ROH ( $F_{ROH}$ ) de un individuo ( $i$ ), es definido como la proporción de su genoma que está en ROH y se calculó utilizando la siguiente fórmula:

$$F_{ROHi} = \frac{\sum_{k=1}^{n_{ROHi}} l_{ROHik}}{l_g}$$

donde  $n_{ROHi}$  es el número total de ROH en el individuo  $i$ ,  $l_{ROHik}$  es la longitud del  $k^{th}$  ROH en el individuo  $i$  en pares de bases y  $l_g$  es la longitud total de los cromosomas cubierta por SNP, siendo para el panel 606K de 2.451.026.045 pb y para el panel 50K para Criollos, Corriedale y Merino de 2.440.537.316 pb, 2.435.392.777 pb y 2.410.709.934 pb, respectivamente.

Para cada una de las longitudes mínimas definidas en la Tabla 1, se calculó el número promedio de ROH y  $F_{ROH}$  con el objetivo de caracterizar la variación de estos parámetros en función de las longitudes mínimas.

Los tramos de homocigosis se estimaron para cada individuo de las tres razas y para los dos paneles de SNP en los ovinos Criollos. Luego se clasificaron en función de en ocho clases en función de la longitud de los ROH: ( $\geq 2-\leq 6$  Mb,  $>6-\leq 10$  Mb,  $>10-\leq 14$  Mb,  $>14-\leq 18$  Mb,  $>18-\leq 22$  Mb,  $>22-\leq 26$  Mb,  $>26-\leq 30$  Mb y  $>30$  Mb).

Se calculó el número de ROH promedio por animal para cada categoría de ROH en las tres razas. Además, se estimaron los coeficientes de consanguinidad basado en ROH total, ROH cortos ( $F_{ROH_c}$ ), definidos como la proporción del genoma de un individuo que está en ROH de longitudes  $\leq 5$  Mb y ROH largos ( $F_{ROH_l}$ ), definido como la proporción del genoma del individuo que está en ROH de longitudes mayores de 5 Mb. Para esto se consideró 2 Mb como longitud mínima del ROH. Se determinó el número de ROH y el  $F_{ROH}$  por cromosoma considerando la menor longitud mínima 2Mb. Además, se estimó el  $F_{ROH}$  promedio por cromosoma.

Por último, se estimó el coeficiente de correlación entre  $F_{SNP}$  de los individuos de estas poblaciones reportados en el capítulo anterior y el  $F_{ROH}$  para los ovinos Criollos, Corriedale y Merino para los dos paneles.

## **10.3. Resultados**

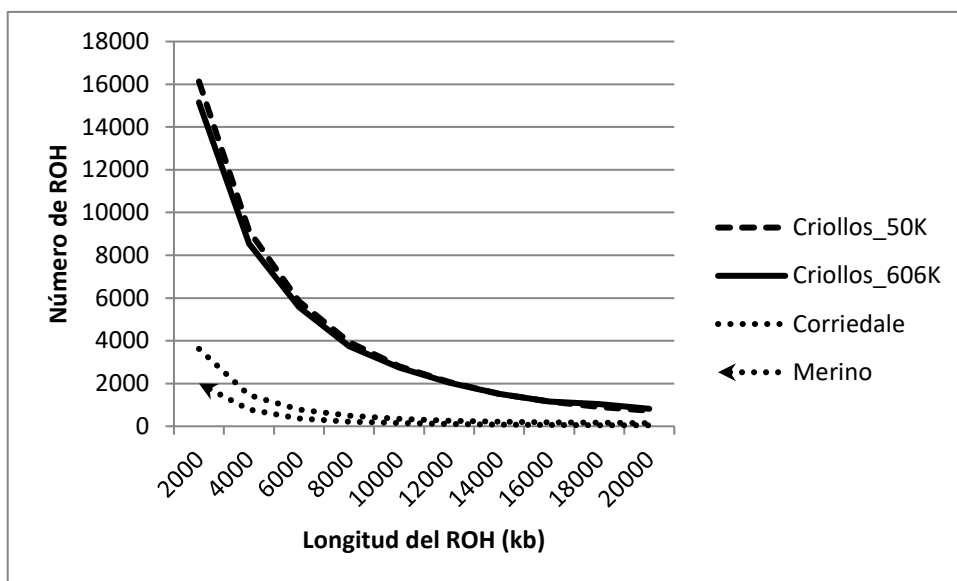
### ***Tramos de homocigosis y longitud mínima***

Para hacer comparables los resultados obtenidos con el panel de 50K y 606K de SNP se definieron parámetros tales como genotipos faltantes, número de SNP heterocigotos

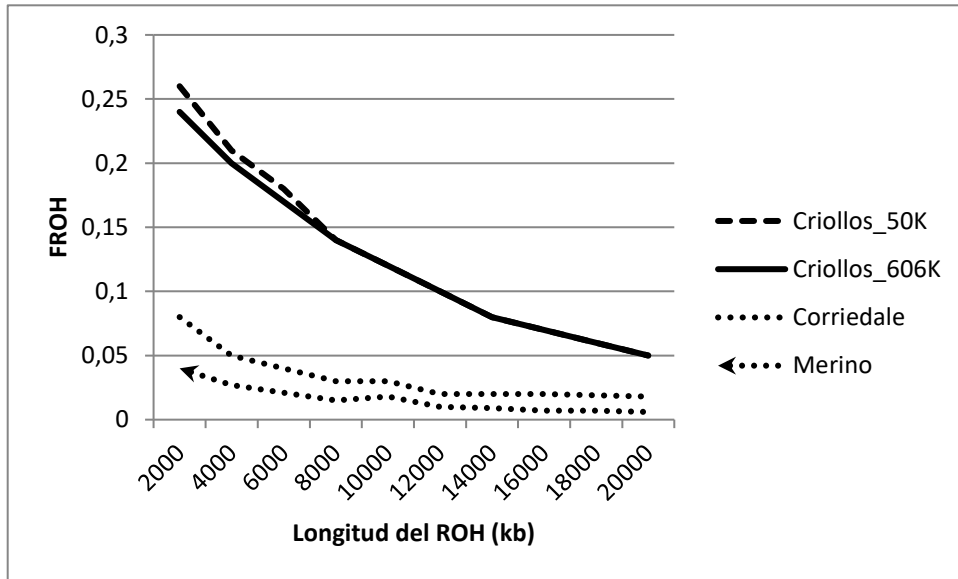
permitidos, mínima densidad de SNP y gap. Las Figuras 7 y 8 muestran el número promedio de ROH y niveles de  $F_{ROH}$ , respectivamente, para diferentes longitudes mínimas. Se observa que los parámetros utilizados en el análisis con los dos densidades de paneles, permitieron alcanzar valores muy similares para todo el espectro de longitudes mínimas consideradas. Esta similitud es menor para distancias por debajo de 8000 kb.

Como es de esperar el número de ROH, disminuye al incrementarse la longitud mínima. Esta tendencia es más clara en los ovinos Criollos que presentan un mayor número de ROH a todas las longitudes mínimas consideradas. Esta diferencia es máxima cuando las longitudes mínimas son de 2000 kb.

Los ovinos Criollos presentaron mayor número de ROH y de  $F_{ROH}$  que las razas Corriedale y Merino. La diferencia máxima es cuando la longitud mínima es de 2000 kb (en un 12% con Merino y 22% con Corriedale para el número de ROH y un 15 % y 31% para el  $F_{ROH}$  en Merino y Corriedale, respectivamente). Al incrementar la longitud estas diferencias se hacen menores, principalmente por una reducción del número promedio de ROH en los ovinos Criollos.



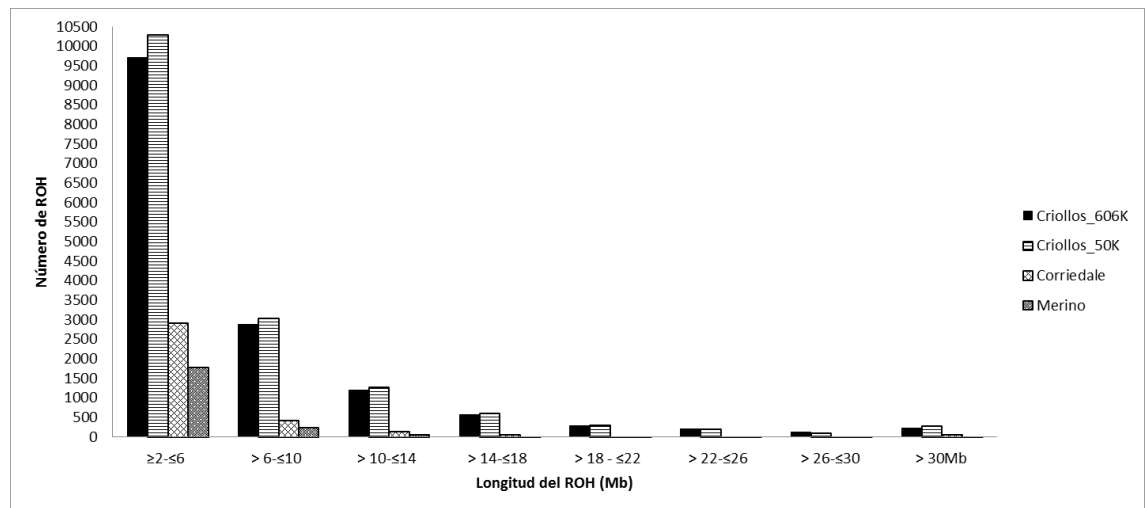
**Figura 7.** Número de ROH según la longitud mínima para identificar ROH para las tres razas con los dos paneles de SNP



**Figura 8.** Coeficiente de consanguinidad basado en ROH ( $F_{ROH}$ ) según la longitud mínima para identificar ROH para las tres razas con los dos paneles de SNP

### *Longitud de los ROH*

Para las tres razas ovinas evaluadas, el número de ROH cortos ( $\leq 2$  longitud  $\leq 6$  Mb) fue mayor que los ROH largos (Figura 9). Los valores discriminados por tipo de panel en Criollos muestran que los parámetros usados en el análisis del 606K llevó a un número de ROH ligeramente menor con este panel en comparación al 50K (6% de diferencia).



**Figura 9.** Número de ROH de diferentes longitudes para las tres razas considerando la longitud mínima de 2 Mb

En el Cuadro XI, se puede observar que la proporción de ROH va disminuyendo a medida que la longitud aumenta, siendo muy baja en las tres razas, más en las

comerciales que en los Criollos, lo que hace que en la Figura 3 en algunas categorías de longitud no se hagan perceptible.

**Cuadro XI.** Proporción de ROH de diferentes longitudes para las tres razas

| Categorías de longitud del ROH (Mb) | <i>Criollos</i>  |                   | <i>Corriedale</i> | <i>Merino</i>    |
|-------------------------------------|------------------|-------------------|-------------------|------------------|
|                                     | <i>Panel 50K</i> | <i>Panel 606K</i> | <i>Panel 50K</i>  | <i>Panel 50K</i> |
| $\geq 2 - \leq 6$                   | 0,640            | 0,640             | 0,789             | 0,819            |
| $> 6 - \leq 10$                     | 0,189            | 0,189             | 0,118             | 0,109            |
| $> 10 - \leq 14$                    | 0,079            | 0,078             | 0,036             | 0,029            |
| $> 14 - \leq 18$                    | 0,038            | 0,037             | 0,014             | 0,016            |
| $> 18 - \leq 22$                    | 0,019            | 0,019             | 0,012             | 0,010            |
| $> 22 - \leq 26$                    | 0,013            | 0,013             | 0,008             | 0,005            |
| $> 26 - \leq 30$                    | 0,007            | 0,007             | 0,006             | 0,005            |
| $> 30$                              | 0,017            | 0,014             | 0,007             | 0,008            |

### *Coefficientes de consanguinidad basados en ROH*

Como se observa en el Cuadro XII el  $F_{ROH\_I}$  promedio es algo más del doble del  $F_{ROH\_c}$  promedio en el caso de los Criollos, utilizando ambos paneles. En Merino, ambos coeficientes fueron iguales. En el caso de la raza Corriedale,  $F_{ROH\_I}$  fue algo mayor que  $F_{ROH\_c}$ . El valor del coeficiente de consanguinidad basado en ROH fue más alto en los Criollos que en las razas comerciales.

**Cuadro XII.** Coeficientes de consanguinidad basados en ROH totales ( $F_{ROH}$ ), cortos ( $F_{ROH\_c}$ ) y largos ( $F_{ROH\_l}$ ) en las tres razas

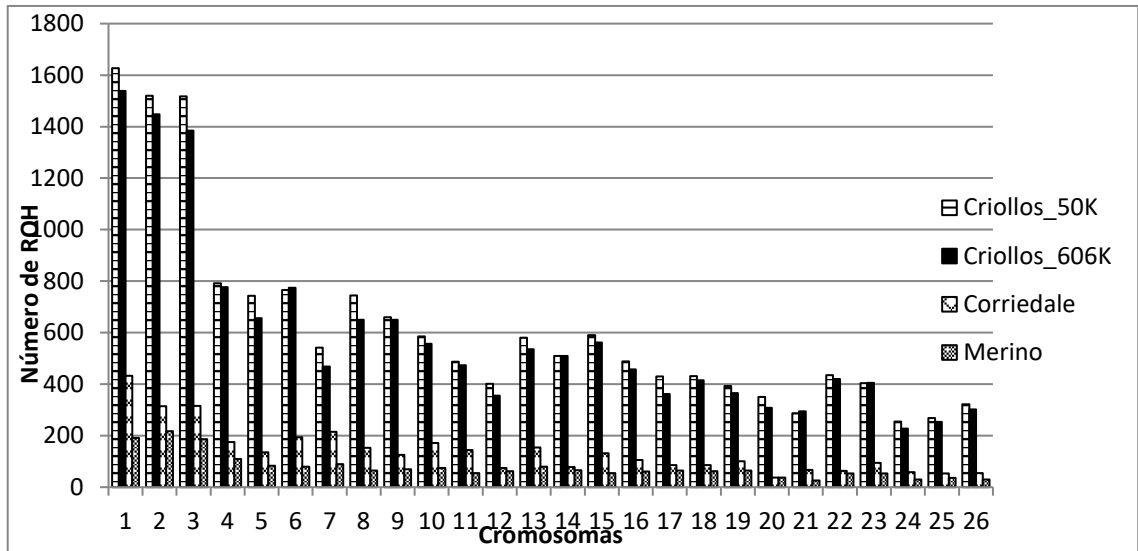
|              | <i>Criollos</i>  |                   | <i>Corriedale</i> | <i>Merino</i>    |
|--------------|------------------|-------------------|-------------------|------------------|
|              | <i>Panel 50K</i> | <i>Panel 606K</i> | <i>Panel 50K</i>  | <i>Panel 50K</i> |
| $F_{ROH\_c}$ | 0,08             | 0,06              | 0,03              | 0,02             |
| $F_{ROH\_l}$ | 0,19             | 0,18              | 0,05              | 0,02             |
| $F_{ROH}$    | 0,27             | 0,24              | 0,08              | 0,04             |

### *Número de ROH y $F_{ROH}$ por cromosoma*

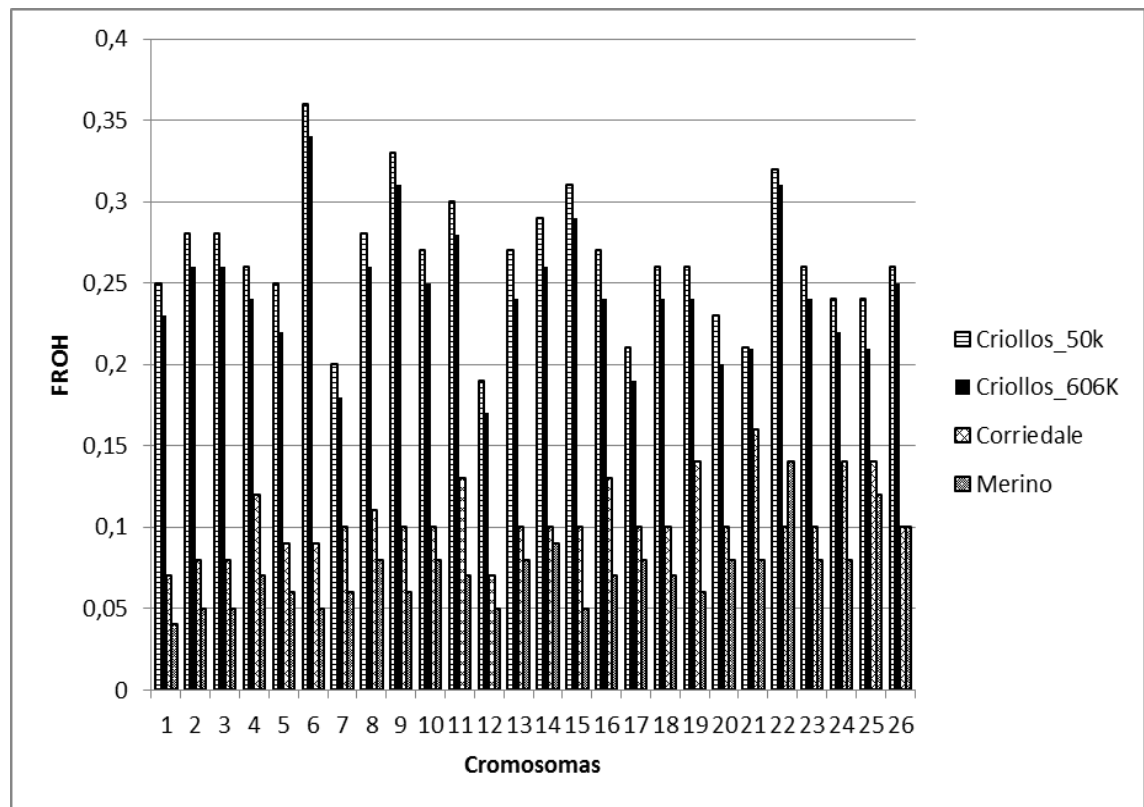
En general, el número de ROH por cromosoma tiende a disminuir a medida que la longitud del cromosoma disminuye. El cromosoma 1, que es el de mayor longitud en el genoma ovino (275 Mb), presentó el mayor número de ROH tanto para el panel 50K (1627) como para el panel de 606K (1539) en Criollos (Figura 10). También fue el que presentó un mayor número de ROH en Corriedale (433). Para la raza Merino el cromosoma 2 (249 Mb) fue el que presentó mayor número de ROH (218).

Con respecto al  $F_{ROH}$  por cromosoma se observa que la distribución varía según la raza y el panel. En el panel de 50K SNP se observó mayor valor de  $F_{ROH}$  para todos los cromosomas. En los ovinos Criollos el  $F_{ROH}$  por cromosoma fue máximo para el

cromosoma 6 y mínimo para el 12 en los dos paneles, varió de 0,19 a 0,36 (50K) y 0,17 a 0,34 (606K). En el panel de 50K, para la raza Corriedale el máximo valor fue para el cromosoma 21 (0,16) y el mínimo fue de 0,07 en los cromosomas 1 y 12 y en la raza Merino el máximo valor fue en el cromosoma 22 (0,14) y el mínimo valor en el cromosoma 1 (0,04) (Figura 11).



**Figura 10.** Número de ROH de diferentes longitudes para las tres razas considerando la longitud mínima de 2 Mb



**Figura 11.** Coeficiente de consanguinidad basado en ROH ( $F_{ROH}$ ) en las tres razas

### ***Coefficiente de correlación (r) entre el $F_{SNP}$ y el $F_{ROH}$***

Los coeficientes de correlación entre los diferentes coeficientes de consanguinidad molecular evaluados fueron altos y positivos considerando ambos paneles de SNP (Cuadro XIII).

**Cuadro XIII.** Coeficiente de correlación entre los diferentes coeficientes de consanguinidad estimados utilizando los dos paneles de SNP en los ovinos Criollos, Corriedale y Merino

|   | <i>Criollos</i> |             | <i>Corriedale</i> | <i>Merino</i> |
|---|-----------------|-------------|-------------------|---------------|
| <i>Panel</i>                                  | <b>50K</b>      | <b>606K</b> | <b>50K</b>        | <b>50K</b>    |
| <i><math>r(F_{SNP}-F_{ROH\_total})</math></i> | 0,98            | 0,99        | 0,98              | 0,96          |

## **10.4. Discusión**

En este estudio, se identificaron los ROH en los genomas de dos razas comerciales (Corriedale y Merino) y una criolla (Criollos). En el caso de los Criollos se utilizaron dos paneles de SNP de diferente densidad. Se estimaron el número de ROH, la consanguinidad basada en ROH en todo el genoma y por cromosoma y la correlación entre el  $F_{SNP}$  y el  $F_{ROH}$ .

### ***Tramos de homocigosidad en ovinos***

Estudios recientes en ovinos se han centrado en la identificación de ROH en varias razas: Merino, Suffolk, Poll Dorset (Al-Mamun et al., 2015), Swakara (Muchadeyi et al., 2015), Texel, Belclare, Vendeen (Purfield et al., 2017) y Barbaresca (Mastrangelo et al., 2017). En los mismos estiman el grado de homocigosidad en una población, la homocigosidad resultante de la consanguinidad reciente y antigua, incluso varios han evaluado el análisis de asociación para identificar ROH que estén asociados con enfermedades y caracteres complejos. Todos estos trabajos utilizan la información que brinda el panel 50K para realizar las estimaciones. En ovinos, hasta el momento no existen estudios que se enfoquen en evaluar el efecto de la densidad del panel de SNP y de los criterios para la definición de un ROH en la estimación de la homocigosidad.

### ***Comparación de los dos paneles***

En el presente estudio se compararon los resultados obtenidos a partir del genotipado con 50K y 606K en ovinos Criollos. Estudios previos realizados por Purfield et al. (2012) y Ferenčaković et al. (2013b) compararon el efecto de la densidad de SNP en las estimaciones de ROH utilizando paneles de similares densidades a los utilizados en este estudio (50K y 777K) pero en bovinos.

Los criterios que se establecen para definir los ROH varían en los diferentes estudios. En el caso de utilizar paneles de SNP de densidades diferentes los criterios no tienen que ser necesariamente los mismos. Purfield et al. (2012) variaron la densidad mínima necesaria para definir un ROH con paneles de distinta densidad, pero mantuvieron constante el número de SNP mínimo, el máximo gap, la longitud mínima y el número de SNP heterocigotos y faltantes permitidos. Asimismo, Ferenčaković et al. (2013b) con el avance en las investigaciones en los análisis de ROH incorporó a las estimaciones los SNP de genotipos heterocigotos y faltantes, los cuales se calcularon para cada longitud mínima que define un ROH. Estos últimos demostraron que tanto la densidad del panel de SNP como los errores de genotipado generan fallas en la estimación de la homocigosis calculada con los ROH. Los autores concluían que era inadecuado no considerar SNP con genotipos heterocigotos. Sin embargo, el panel de menor densidad de SNP puede fallar en la detección de los genotipos heterocigotos dentro del ROH (Ferenčaković et al., 2013b).

En el presente trabajo los criterios que se establecieron para la identificación de los ROH fueron diferentes para los dos paneles. Los mismos se fijaron considerando el tamaño del genoma ovino y diferenciando la distribución según la densidad de SNP de los dos paneles, de manera de obtener resultados similares entre ambos. Dado que el panel más utilizado es el de 50K SNP, se definieron los parámetros para el de 606K en función de los resultados obtenidos con el panel de 50K SNP. Además, el número de genotipos heterocigotos y faltantes varió según la longitud mínima permitida para definir los ROH, en concordancia con las recomendaciones de Ferenčaković et al. (2013b).

Los resultados obtenidos confirman que los criterios utilizados en el 606K permitieron alcanzar número de ROH y  $F_{ROH}$  de magnitud similar en ambos paneles. El número de ROH totales identificados con el panel de 50K (16.130) fue 6% mayor que el detectado con el panel de 606K (15.152). El número promedio de ROH cortos fue también mayor en un 10% comparado con el 606K, aunque la proporción fue de 64% en ambos casos (Tabla 3). La obtención de valores similares determinó que los parámetros genéticos para los ovinos Criollos fueran muy similares para ambos paneles.

### ***Caracterización de la consanguinidad***

Los valores de consanguinidad estimados a partir de  $F_{ROH}$  indican niveles elevados en los ovinos Criollos, los cuales son 3 a 4 veces superiores a los de Corriedale y Merino. El 25% del genoma de los ovinos Criollos son ROH, mientras que esta proporción es de 4 a 8% en las razas comerciales.

Si bien las estimaciones de otros estudios deben ser tomadas con precaución, dadas las diferencias entre los parámetros y software utilizados en las definiciones de ROH (Howrigan et al., 2011), las estimaciones obtenidas en este trabajo para las razas comerciales se encuentran en el rango de los valores reportados a nivel internacional. Estimaciones realizadas por Purfield et al. (2017) indican niveles similares promedio de  $F_{ROH}$  para seis razas ovinas comerciales que varían entre 0,05 y 0,10. Estos valores son coincidentes con las estimaciones en razas puras comerciales en Australia (Al-

Mamun et al., 2015) y con los resultados obtenidos en ovinos y cabras por Kim et al. (2016).

Existen pocas indicaciones de valores tan elevados como los encontrados aquí para los ovinos Criollos. Como señalan Curik et al. (2014),  $F_{ROH}$  mayores al 15%, son reflejo de tamaños efectivos reducidos. La estimación del tamaño efectivo de los ovinos Criollos, en base al desequilibrio de ligamiento, fue de 45. Si bien no existen datos precisos del origen de la población, el tamaño efectivo estimado al momento de la fundación fue de solo 58 animales, con reducciones constante a partir de entonces.

El  $F_{SNP}$  también indicó niveles mayores de consanguinidad para los ovinos Criollos en comparación a Merino y Corriedale, siendo más similares entre las razas comerciales. Los valores absolutos son sin embargo mayores a los de  $F_{ROH}$  dado que  $F_{SNP}$  no distingue entre identidad por descendencia y por estado. Resultados similares fueron encontrados en Ferenčaković et al. (2013a) en razas bovinas.

Las correlaciones entre el  $F_{SNP}$  y el  $F_{ROH}$  en este estudio fueron muy altas y positivas para todas las razas y densidad de paneles. Los mismos concuerdan con los resultados obtenidos (Purfield et al. 2017) en cuatro razas ovinas carniceras cuyos valores estuvieron entre 0,60 – 0,98. Esta correlación moderada a alta sugiere que la proporción del genoma en ROH puede ser un estimador preciso de la proporción del genoma idéntica por descendencia.

Los ROH debido a la consanguinidad reciente tenderán a ser más largos porque tuvieron una menor oportunidad para que la recombinación pueda romper los segmentos que son IBD. Por otro lado, los ROH de origen más antiguo son generalmente más cortos porque los segmentos cromosómicos han sido divididos en las meiosis sucesivas (Purfield et al., 2012).

Los coeficientes  $F_{ROH\_c}$  como  $F_{ROH\_l}$  indican la proporción del genoma con ROH cortos y largo, respectivamente. Tanto los valores promedio de  $F_{ROH\_c}$  como  $F_{ROH\_l}$  fueron superiores en los ovinos Criollos. La mayor proporción de ROH cortos señala una mayor homocigosis de origen remoto en la historia de los ovinos Criollos en comparación con las razas Merino y Corriedale. Sin embargo, la mayor diferencia se observa en los  $F_{ROH\_l}$ . Esto indicaría que la población de ovinos Criollos ha estado sometida a un proceso de endocria reciente más intenso que las razas comerciales, asociado al reducido tamaño efectivo de la población, la cual se ha mantenido cerrada.

Además de diferencias en el  $F_{ROH}$ ,  $F_{ROH\_l}$  y  $F_{ROH\_c}$  entre ovinos Criollos y las razas comerciales consideradas, se encontraron diferencias en la distribución de los ROH a lo largo del genoma. En este estudio se consideraron las diferencias entre cromosomas en términos del número promedio de ROH y proporción del genoma en ROH.

En estudios con información genealógica se han evaluado las correlaciones entre el  $F_{ROH}$  y el coeficiente de consanguinidad estimado a partir de los registros genealógicos ( $F_{PED}$ ) siendo también moderadas a altas con rangos entre 0,59 a 0,68 en bovinos de leche (Kim et al., 2013), 0,12 a 0,76 en ovinos (Purfield et al., 2017) y 0,50 a 0,72 en bovinos de carne (Ferenčaković et al., 2013a). Sin embargo, existen diferencias entre el  $F_{ROH}$  y el  $F_{PED}$  que puede explicarse considerando los ROH antiguos y recientes, los



que son representados por fragmentos IBD cortos y largos, respectivamente. El  $F_{PED}$  estima la consanguinidad con los registros genealógicos, los cuales puede ser limitados en el tiempo y están referidos a una población base. Es por esto, que se considera que los resultados de  $F_{PED}$  y  $F_{ROH}$  son más similares al considerar los ROH largos que surgen por los eventos de consanguinidad reciente (Marras et al., 2014).

Las regiones del genoma más afectadas por la selección tienden a presentar una menor variación, mayor ROH y desequilibrio de ligamiento como huellas o señales de dicha selección (Curik et al., 2014). Estudios en ganado lechero encontraron que los tipos y patrones de ROH a lo largo del genoma pueden indicar las regiones genómicas que han estado bajo presión de selección reciente o antigua (Kim et al., 2013). Purfield et al. (2017) identificaron aquellas que habían estado bajo posible selección y que superponían con regiones altas en ROH. Las mismas coinciden con la ubicación de genes candidatos asociados con pigmentación de la piel, tamaño corporal y desarrollo muscular, las cuales son características bajo selección en los programas actuales de mejora genética.

Si bien el número de ROH tiende a disminuir con el largo de los cromosomas en términos generales, como reportó Al-Mamun et al. (2015), se evidenció que el número promedio de ROH resultó ser mayor en el cromosoma 1 para los ovinos Criollos y Corriedale, y en el cromosoma 2 para la raza Merino. Este último caso podría estar asociado con la selección por pigmentación de la piel, la cual es un criterio importante que hace a la calidad de la lana, tanto en Uruguay como a nivel mundial. Resultados similares fueron reportados por Al-Mamun et al. (2015) al analizar la distribución de los ROH en razas comerciales australiana, incluyendo ovinos Merino.

Una de las ventajas que tienen los coeficientes de consanguinidad molecular como lo es el  $F_{ROH}$  es brindar la posibilidad de obtener la estimación por cromosoma. Los patrones de distribución de los ROH son diferentes entre los ovinos Criollos y las razas comerciales, aunque existen diferencias entre estas también. Se evidencia una dominancia de los ROH en los cromosomas 6, 9, 11, 15 y 22 en los Criollos. En el caso de los Merino 22, 25, 26 y 14, y en Corriedale, el 21, 25, 19 y 11. Los diferentes patrones de concentración de ROH a lo largo del genoma pueden ser resultado de los objetivos de selección en estas razas, lo que tiende a generar las llamadas islas de ROH, definidas como regiones con una baja variabilidad genética, alta homocigosidad (Pemberton et al., 2012). Nothnagel et al. (2010) revelaron que hay una relación significativa entre el aumento en una región del desequilibrio de ligamiento y la incidencia de las islas de ROH como una relación negativa entre el tamaño efectivo de la población y la formación de ROH. A su vez, la selección natural es una razón potencial para la formación de las islas de ROH.

El análisis detallado de aquellos marcadores que están con mayor frecuencia en ROH podrá contribuir en futuros trabajo al análisis de huellas de selección, así como al estudio del efecto de la selección natural en sobrevivencia y rusticidad, en los ovinos Criollos.

### ***Uso de los tramos de homocigosis en la conservación de animales***

Los ROH resultan de utilidad a la hora de establecer estrategias para preservar la diversidad genética tanto en los programas de conservación de poblaciones en riesgo de extinción como a nivel de los apareamientos entre los animales.

La depresión endogámica determinada por el incremento de la consanguinidad y consecuente homocigosis condiciona la viabilidad y sobrevivencia de una población. Existen dos hipótesis que explican esto. Por un lado, el incremento de la homocigosis que lleva a la expresión de mutaciones letales recesivas que permanecen en la población, ya que las dominantes son “purgadas” por selección. Por otro lado, el incremento de la consanguinidad lleva a un descenso de la heterocigocidad que determina una reducción en el desempeño bajo el supuesto de dominancia o sobredominancia (Keller et al., 2011).

La posibilidad de categorizar los ROH según su longitud y dada la asociación con endocría más recientes o lejanas, contribuyen a manejar los efectos deletéreos de la depresión endogámica. En términos generales la consanguinidad más reciente es la que tiene efectos más dañinos en la supervivencia de una población, ya que la de origen muy remoto ha sido ya purgada por efecto de la selección. Estudios sobre estrategias de conservación indican la efectividad de evitar ROH largos en la descendencia como forma de prevenir los efectos deletéreos de la consanguinidad recientes (Toro et al., 2014). La posibilidad de incorporar este parámetro para la conservación del ovino Criollo es particularmente relevante dada el elevado nivel de  $F_{ROH_c}$  estimado en este estudio.

A esto se suma la posibilidad de utilizar la información de ROH no solo para minimizar la consanguinidad promedio, sino también para reducir la frecuencia o evitar los apareamientos que generen descendencia que sea homocigota en las regiones específicas asociadas con depresión endogámica. Esto es posible a partir de la identificación de los segmentos con mayor efecto en la depresión endogámica, como los indican los estudios realizados por Saura et al. (2015) y Pryce et al. (2014) en características de fertilidad y producción en cerdos y ganado lechero, respectivamente.

## **10.5. Conclusiones**

En este estudio se investigó la distribución de los ROH en los genomas de tres razas ovinas. Los ovinos Criollos presentaron valores de consanguinidad basado en ROH que fueron 4 a 6 veces mayores que los encontrados en las razas comerciales evaluadas, en base a la misma densidad de marcadores.

Se establecieron criterios para la definición de los ROH en el panel de 606K considerando las diferencias con el panel de 50K y se obtuvieron resultados similares de  $N_{ROH}$  y  $F_{ROH}$  en los ovinos Criollos. Esto indica que para que los resultados sean comparables a diferentes densidades de SNP, es necesario modificar en forma importante los parámetros de la definición de ROH o focalizarse solo en los SNP que puedan existir en común entre los paneles.

El tamaño de los ROH brinda información sobre la historia de la endocría en una población. El  $F_{ROH}$  estuvo explicado en un 70% por los  $F_{ROH_1}$  en los ovinos Criollos lo que indicaría que ha estado sometida a un proceso de consanguinidad reciente más intenso que las razas comerciales.

En los cromosomas se detectaron zonas con un mayor acúmulo de ROH, las cuales variaron de cromosoma según la raza. El estudiar en detalle estas regiones permitirá identificar genes implicados en caracteres de importancia productiva como resistencia / susceptibilidad a enfermedades.

## 10.6. Bibliografía

1. Al-Mamun, H. A., A Clark, S., Kwan, P., Gondro, C. (2015). Genome-wide linkage disequilibrium and genetic diversity in five populations of Australian domestic sheep. *Genet. Sel. Evol.*, 47:90. <https://doi.org/10.1186/s12711-015-0169-6>.
2. Anderson, R., McEwan, J., Brauning, R., Kijas, J., Dalrymple, B. (2014). Development of a High Density (600K) Illumina Ovine SNP Chip and Its Use to Fine Map the Yellow Fat Locus. *Plant and Animal Genome XXII*. San Diego, C.A.
3. Bjelland, D. W., Weigel, K. A., Vukasinovic, N., Nkrumah, J. D. (2013). Evaluation of inbreeding depression in Holstein cattle using whole-genome SNP markers and alternative measures of genomic inbreeding. *J. Dairy Sci.*, 96(7), 4697–706. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6435>
4. Bosse, M., Megens, H. J., Madsen, O., Paudel, Y., Frantz, L. A. F., Schook, L. B. (2012). Regions of homozygosity in the porcine genome: consequence of demography and the recombination landscape. *PLOS Genet.*, 8 (11): e1003100. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003100>
5. Broman, K. W., Weber, J. L. (1999). Long Homozygous Chromosomal Segments in Reference Families from the Centre d'Étude du Polymorphisme Humain. *Am. J. Hum. Genet.*, 65(6):1493–1500.
6. Browning, B. L., Browning, S. R. (2009). A unified approach to genotype imputation and haplotype-phase inference for large data sets of trios and unrelated individuals. *Am. J. Hum. Genet.*, 84 (2):210-223. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2009.01.005>
7. Curik, I., Ferenčaković, M., Sölkner, J. (2014). Inbreeding and runs of homozygosity: A possible solution to an old problem. *Livest. Sci.*, 166 (1):26–34. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2014.05.034>
8. Ferenčaković, M., Hamzić, E., Gredler, B., Solberg, T. R., Klemetsdal, G., Curik, I., Sölkner, J. (2013a). Estimates of autozygosity derived from runs of

- homozygosity: Empirical evidence from selected cattle populations. *J. Anim. Breed. Genet.*, 130(4):286–293. <https://doi.org/10.1111/jbg.12012>
9. Ferenčaković, M., Sölkner, J., Curik, I. (2013b). Estimating autozygosity from high-throughput information: effects of SNP density and genotyping errors. *Genet. Sel. Evol.*, 45:42. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-45-42>
  10. Gibson, J., Morton, N. E., & Collins, A. (2006). Extended tracts of homozygosity in outbred human populations. *Hum. Mol. Genet.*, 15(5):789-795. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddi493>
  11. Grasso, A. N., Goldberg, V., Navajas, E. A., Iriarte, W., Gimeno, D., Aguilar, I., Medrano, J., Rincón, G., Ciappesoni, G. (2014). Genomic variation and population structure detected by single nucleotide polymorphism arrays in Corriedale, Merino and Creole sheep. *Genet. Mol. Biol.*, 37(2):389–395.
  12. Guangul, S. A. (2014). Design of community based breeding programs for two indigenous goat breeds of Ethiopia. Tesis doctoral, University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna, Austria.
  16. Gusev A., Lowe J.K., Stoffel M., Daly M.J., Altshuler D., Breslow J.L., Friedman J.M. Pe'er I. (2009). Whole population, genome-wide mapping of hidden relatedness. *Genome Res.*, 19:318–26.
  17. Hillestad, B. (2015). Inbreeding determined by the amount of homozygous regions in the genome. Tesis doctoral, Department of Animal and Aquacultural Sciences Faculty of Veterinary Medicine and Biosciences Norwegian University of Life Sciences.
  18. Howrigan, D. P., Simonson, M. A., Keller, M. C. (2011). Detecting autozygosity through runs of homozygosity: a comparison of three autozygosity detection algorithms. *BMC Genom.*, 12(460):1471-2164. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-12-460>
  28. Keller, M. C., Visscher, P. M., Goddard, M. E. (2011). Quantification of inbreeding due to distant ancestors and its detection using dense single nucleotide polymorphism data. *Genetics*, 189(1): 237–249. <https://doi.org/10.1534/genetics.111.130922>
  29. Kim, E.S., Elbeltagy, A.R., Aboul-Naga, A.M., Rischkowsky, B., Sayre, B., Mwacharo, J.M., Rothschild, M.F. (2016). Multiple genomic signatures of selection in goats and sheep indigenous to a hot arid environment. *Heredity*, (116): 255–264.
  30. Kim, E.S., Cole, J.B., Huson, H., Wiggans, G.R., Van Tassell, C.P., Crooker, B.A., Liu, G., Da, Y., Sonstegard, T.S. (2013). Effect of Artificial Selection on Runs of Homozygosity in US Holstein Cattle. *PLOS ONE*, 8(11): e80813.

31. Khanshour, A., Conant, E., Juras, R., Cothran, E.G. (2013). Microsatellite analysis of genetic diversity and population structure of Arabian horse populations. *J. Hered.*, 104:386–398.
32. Ku, C.S., Naidoo, N., Teo, S.M., Pawitan, Y. (2011). Regions of homozygosity and their impact on complex diseases and traits. *Hum. Genet.* 129:1–15.
33. Marras, G., Gaspa, G., Sorbolini, S., Dimauro, C., Ajmone-Marsan, P., Valentini, A., Williams, J.L., Macciotta, N.P. (2014). Analysis of runs of homozygosity and their relationship with inbreeding in five cattle breeds farmed in Italy. *Anim. Genet.*, 46(2):110–21. [doi: 10.1111/age.12259](https://doi.org/10.1111/age.12259)
34. Mastrangelo, S., Portolano, B., Di Gerlando, R., Ciampolini, R., Tolone, M., & Sardina, M. (2017). Genome-wide analysis in endangered populations: A case study in Barbaresca sheep. *Animal*, 11(7):1107-1116. [doi:10.1017/S1751731116002780](https://doi.org/10.1017/S1751731116002780)
35. Muchadeyi, F.C., Malesa, M.T., Soma, P., Dzomba, E.F. (2015) Runs of homozygosity in Swakara pelt producing sheep: implications on sub-vital performance. *Proceedings for Association for the Advancement of Animal Breeding and Genetics*, 21:310–3.
36. Nothnagel, M., Lu, T. T., Kayser, M., Krawczak, M. (2010). Genomic and geographic distribution of snp defined runs of homozygosity in Europeans. *Hum. Mol. Genet.*, 19(15):2927–2935. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddq198>
37. OvineSNP50 Datasheet - Illumina. (2010). OvineSNP50 DNA Analysis. [http://www.illumina.com/products/ovinesnp50\\_dna\\_analysis\\_kit.ilmn](http://www.illumina.com/products/ovinesnp50_dna_analysis_kit.ilmn)
38. Pemberton, T. J., Absher, D., Feldman, M. W., Myers, R. M., Rosenberg, N. A., Li, J. Z. (2012). Genomic patterns of homozygosity in worldwide human populations. *Am. J. Hum. Genet.*, 91(2):275–292. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2012.06.014>
39. Pryce, J. E., Haile-Mariam, M., Goddard, M. E., Hayes, B. J. (2014). Identification of genomic regions associated with inbreeding depression in Holstein and Jersey dairy cattle. *Genet. Sel. Evol.*,46:71. [doi: 10.1186/s12711-014-0071-7](https://doi.org/10.1186/s12711-014-0071-7).
40. Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M. A. R., Bender, D. (2007). PLINK: a toolset for whole-genome association and population based linkage analysis. *Am. J. Hum. Genet.*, 81(3):559-575. <https://doi.org/10.1086/519795>
41. Purfield, D. C., Berry, D. P., McParland, S., Bradley, D. G. (2012). Runs of homozygosity and population history in cattle. *BMC Genet.*, 13(1):1–11. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-13-70>

42. Purfield, D.C., McParland, S., Wall, E., Berry, D.P. (2017). The distribution of runs of homozygosity and selection signatures in six commercial meat sheep breeds. Barendse W, PLOS ONE, 12(5):e0176780.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176780>.
43. Saura, M., Fernández, A., Varona, L., Fernández, A.I., de Cara, M.A.R, Barragán,C., Villanueva, B. (2015). Detecting inbreeding depression for reproductive traits in Iberian pigs using genome-wide data. Genet. Sel. Evol., 47:1.
44. Sölkner, J., Frkonda, A., Raadsma, H. W., Jonas, E., Thaller, G., Gootwine, E., Seroussi, E., Egger-Danner, C., Gredler, B. (2010). Estimation of individual levels of admixture in crossbred populations from SNP chip data : examples with sheep and cattle populations. Interbull Bulletin, 42:62–66.
45. Szpiech, Z.A., Xu, J.S., Pemberton, T.J., Peng, W.P., Zollner, S., Rosenberg, N.A., Li, J.L. (2013). Long Runs of Homozygosity Are Enriched for Deleterious Variation. Am. J. Hum. Genet., 93(1):90–102. [doi: 10.1016/j.ajhg.2013.05.003](https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2013.05.003)
46. Toro, M. A., Villanueva, B., Fernández, J. (2014). Genomics applied to management strategies in conservation programmes. Livest. Sci., 166:48-53.  
<https://doi.org/10.1016/j.livsci.2014.04.020>
47. Zhang, L., Mousel, M. R., Wu, X., Michal, J. J., Zhou, X., Ding, B. (2013). Genome-wide genetic diversity and differentially selected regions among Suffolk, Rambouillet, Columbia, Polypay, and Targhee sheep. PLOS ONE, 8(6):e65942.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065942>

## 11. DISCUSIÓN GENERAL

En la presente tesis se realizó la caracterización genética de los ovinos Criollos del Parque Nacional de San Miguel en base a la información genómica a partir del genotipado con alta densidad de SNP.

El estudio se dividió en dos secciones. La primera parte se basó en la estimación de la variabilidad genética con los parámetros utilizados tradicionalmente para calcular la diversidad genética y las relaciones entre los individuos, mientras que la segunda, se enfocó en una nueva forma para determinar la consanguinidad molecular en base a los tramos de homocigosis (ROH).

En el capítulo 9, se estudiaron los niveles de heterocigosidad observada y esperada, la coascendencia y la consanguinidad molecular SNP por SNP ( $F_{SNP}$ ), los patrones de desequilibrio de ligamiento (DL) y la evolución del tamaño efectivo ( $N_e$ ). Además, se obtuvieron los resultados de los niveles de heterocigosidad observada y esperada, la coascendencia y la consanguinidad utilizando los SNP comunes a los dos paneles (606K/50K) en los ovinos Criollos, Corriedale y Merino. Los valores de la

heterocigosidad observada y esperada fueron menores en los ovinos Criollos, lo que se corresponde con los mayores niveles de coascendencia y consanguinidad molecular evidenciados en estos ovinos. Los niveles de DL promedio y para marcadores cercanos entre sí fueron altos y decaen rápidamente al aumentar la distancia entre marcadores. A su vez, el DL se utilizó para estimar el  $N_e$  ancestral y reciente. Al evaluar la evolución del  $N_e$  en los ovinos Criollos se evidencia una reducción de un 23% desde el año de fundación del rebaño hasta la actualidad.

En el siguiente capítulo, se identificaron los ROH en los ovinos Criollos, Corriedale y Merino. Para su cálculo se establecieron los criterios, primero para los SNP comunes a los dos paneles (606K/50K), considerando la información de la bibliografía, y luego para el de 606K. El coeficiente de consanguinidad basado en ROH ( $F_{ROH}$ ) y el número de ROH en los Criollos fueron mayores que en las razas comerciales. Al evaluar el  $F_{ROH}$ , los tramos largos promedio presentaron mayor valor que los tramos cortos en Criollos (utilizando ambos paneles de SNP) y en Corriedale, siendo igual para los dos tramos en la raza Merino. Esto indica que la mayor proporción de la consanguinidad es reciente en las poblaciones en estudio. Es decir que la mayor consanguinidad en los ovinos Criollos se debe a un proceso de endocria reciente e intensa, que resultaría en un aumento del riesgo de expresión de alelos deletéreos y la reducción de la viabilidad de la descendencia, fenómeno conocido como depresión endogámica (Charlesworth y Charlesworth, 1999). La consanguinidad derivada de un ancestro común lejano va a tener menor efecto en la reducción de la eficacia biológica si se compara con un ancestro común reciente, debido a que la selección natural actuó durante largos períodos de tiempo para purgar los alelos deletéreos de la población (Holt et al., 2005).

La distribución de los ROH por cromosoma mostró diferencias entre las tres razas y por cromosoma. Al valorar los dos coeficientes de consanguinidad molecular ( $F_{ROH}/F_{SNP}$ ) utilizados en esta tesis se obtuvo una correlación alta y positiva. Esto implica que los niveles de homocigosis derivados de los ROH pueden utilizarse como un estimador preciso de los niveles de consanguinidad individual (Saura et al., 2013). La evaluación de los patrones ROH puede utilizarse en los programas de conservación. Los animales con altos niveles de consanguinidad molecular basado en los ROH deberían ser eliminados o menos utilizados en los cruzamientos en poblaciones en riesgo de extinción o con pequeño tamaño efectivo como los ovinos Criollos (Herrero-Medrano et al., 2013). Asimismo, con el estudio de los ROH se pueden identificar zonas denominadas islas de ROH donde se pueden encontrar genes de importancia productiva o implicados en procesos biológicos, o relacionados con la susceptibilidad o resistencia a enfermedades. Por ejemplo, en la raza Corriedale, en la que se cuenta con líneas divergentes (susceptibles/ resistentes) a parásitos gastrointestinales se podrían identificar regiones asociadas a la resistencia a la infección de nematodos y seleccionar considerando las mismas.

Las estimaciones obtenidas a partir de los distintos parámetros estudiados demuestran el bajo nivel de diversidad genética presente en los ovinos Criollos. Si bien, era de esperarse obtener valores bajos, lo que sí sorprende es el orden de magnitud encontrado, ya que valores de  $H_o$  y  $H_e$  similares solo se evidenciaron en razas, como la raza Soay, que se encuentra aislada en una isla escocesa y catalogada en un alto riesgo de extinción (Kijas et al., 2009).

Este trabajo permitió conocer la magnitud del problema en los ovinos Criollos. Ahora bien, el siguiente paso, es traducir todo este conocimiento obtenido y volcarlo en situaciones prácticas para fines de conservación buscando el mejor enfoque a seguir en estos ovinos.

A través del cálculo de la coascendencia molecular entre todos los pares de animales se obtuvo la información de la estructura de la población. La forma más adecuada de realizar los apareamientos desde el punto de vista conservacionista es la de apareamientos dirigidos realizando los cruzamientos de animales con menor parentesco, de manera de reducir la tasa de incremento de la consanguinidad (Gómez-Romano et al., 2013). Esta optimización de los apareamientos en estos ovinos resultaría apropiada con un correcto manejo de los carneros y de las hembras. En la práctica, estos ovinos comparten los mismos potreros y no hay un período de encarnerada establecido. Este sería un punto para mejorar, aplicando los resultados de coascendencia obtenidos y realizando los apareamientos entre aquellos individuos menos emparentados. El impacto de esta estrategia implementada se conocerá en las siguientes generaciones, por lo que resulta fundamental el monitoreo a futuro de estos ovinos con los parámetros ya analizados.

El tamaño efectivo es la medida elegida para la evaluación del estado de riesgo de las poblaciones (FAO, 1992). Este trabajo es el primero en incorporar el cálculo del tamaño efectivo en base al desequilibrio de ligamiento a nivel nacional. De esta forma, se obtiene la imagen del  $N_e$  a lo largo de los años, lo que posibilita entender las diferentes situaciones sufridas por las poblaciones que llevaron a su reducción.

La consanguinidad resulta más crítica en poblaciones de tamaño efectivo reducido y en riesgo de extinción, pero no deja de ser relevante en poblaciones comerciales sometidas a una selección intensa. El fuerte aumento de la intensidad de selección en los programas de mejoramiento genético ha contribuido al aumento de las tasas de consanguinidad. Estas herramientas generadas aplicadas para la genómica de la conservación de recursos genéticos son también un aporte a la conservación de la variabilidad genética y al mejoramiento genético de otras especies. Esto incluye a especies silvestres, así como productivas y en particular aquellas con evaluación genética y en las cuales ya se cuenta con información genómica como las razas Hereford y Holando (Aguilar et al., 2010).

Sería un aporte interesante de esta tesis motivar la creación de una base de datos en el país acerca de los parámetros relacionados con la diversidad genética, como se cuenta actualmente de los rasgos productivos, enfocada a generar pautas de conservación y mejoramiento genético.

## **12. CONCLUSIONES GENERALES**

La presente tesis proporciona información para abordar la gestión y la explotación de los recursos genéticos locales como lo son los ovinos Criollos uruguayos. La caracterización de su diversidad genética y la estructura poblacional facilitará la definición de estrategias de conservación.



La variabilidad genética encontrada en los ovinos Criollos fue menor que en los ovinos Corriedale y Merino estudiados. Esto se evidencia en el alto porcentaje de SNP fijados, los menores valores de heterocigosidad observada y esperada y los mayores niveles de coascendencia y consanguinidad molecular ( $F_{SNP}$ ). La comparación con las estimaciones de otras poblaciones de censo reducido a nivel mundial indica un elevado riesgo de extinción.

Este estudio permitió explorar los patrones de desequilibrio de ligamiento en los ovinos Criollos y a través de estos, investigar la evolución del tamaño efectivo. Se obtuvieron altos niveles de desequilibrio de ligamiento tanto promedio como a distancias cercanas entre marcadores. El conocimiento de los patrones es de gran utilidad en los estudios de asociación para identificar caracteres de importancia productiva. El tamaño efectivo fue reducido desde la fundación del rebaño en 1937, observándose una reducción en un 23% desde entonces.

Se establecieron los valores de los criterios requeridos para la identificación de los ROH, de forma de obtener resultados similares entre los dos paneles de SNP utilizados (606K y 50/606K). El coeficiente de consanguinidad basado en ROH ( $F_{ROH}$ ) y el número de ROH fueron mayores en los ovinos Criollos que en las razas comerciales. El estudio de los efectos de la historia de la población en base a los tramos de homocigosis muestra que la mayor consanguinidad es reciente y permitió establecer zonas de mayor dominancia de ROH que varía por cromosoma en las tres razas. Los dos métodos utilizados para determinar la consanguinidad molecular ( $F_{SNP}$  y  $F_{ROH}$ ) presentaron una correlación alta y positiva en las tres razas.

Los resultados de este estudio tienen claras aplicaciones prácticas para comprender la dinámica de las poblaciones y utilizarlos en los programas de conservación y de mejoramiento genético. Además, aunque estas técnicas se estudiaron para los ovinos Criollos, Corriedale y Merino, las mismas se pueden emplear en otras razas ovinas y especies, tanto productivas como silvestres.

### 13. BIBLIOGRAFÍA

1. Aguilar, I., Misztal, I., Johnson, D. L., Legarra, A., Tsuruta, S., Lawlor, T. J. (2010). Uso de información genómica en evaluaciones genéticas. *Agrociencia*, 14:3:43-47.
2. Al-Mamun, H. A., A Clark, S., Kwan, P., Gondro, C. (2015). Genome-wide linkage disequilibrium and genetic diversity in five populations of Australian domestic sheep. *Genet. Sel. Evol.*, 47:90. <https://doi.org/10.1186/s12711-015-0169-6>.
3. Armstrong, E., Iriarte, A., Martínez, A.M., Feijoo, M., J., Vega-Pla, L., Delgado, J.V., Postiglioni, A. (2013). Genetic diversity analysis of the Uruguayan Creole cattle breed using microsatellites and mtDNA markers. *Genet. Mol. Res.*, 12 (2): 1119-1131.

4. Astorga, M. (2008). Estado actual del uso de marcadores moleculares en moluscos bivalvos de importancia para la acuicultura. Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura: factores que afectan su sustentabilidad en América Latina. Editores: A. Lovatelli, A. Farias e I. Uriarte. Taller Técnico Regional de la FAO. Puerto Montt, Chile. FAO Actas de Pesca y Acuicultura, 12: 277–287.
5. Ball, A. D., Stapley, J., Dawson, D. A., Birkhead, T. R., Burke, T., Slate, J. (2010). A comparison of SNPs and microsatellites as linkage mapping markers: lessons from the zebra finch (*Taeniopygia guttata*). *BMC Genom.*, 11:218. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-218>
6. Baumung, B. R., Simianer, H., Hoffmann, I. (2004). Genetic diversity studies in farm animals – a survey. *J. Anim. Breed. Genet.*, 121:361-373. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0388.2004.00479.x>
7. Bervejillo, J. (2016). Situación y perspectivas de la cadena ovina. Oficina de Programación y Política Agropecuaria, (OPYPA).
8. Beynon, S. E., Slavov, G. T., Farré, M., Sunduimijid, B., Waddams, K., Davies, B., Haresign, W., Kijas, J., MacLeod, I.M., Newbold, C.J., Davies, D., Larkin, D. M. (2015). Population structure and history of the Welsh sheep breeds determined by whole genome genotyping. *BMC Genet.*, 16(1): 65. <https://doi.org/10.1186/s12863-015-0216-x>
9. Biegelmeyer, P., Gulias-Gomes, C.C., Caetano, A.R., Steibel, J.P., Cardoso, F.F. (2016). Linkage disequilibrium, persistence of phase and effective population size estimates in Hereford and Braford cattle. *BMC Genet.*, 17:32. <https://doi.org/10.1186/s12863-016-0339-8>.
10. Bjelland, D. W., Weigel, K. A., Vukasinovic, N., Nkrumah, J. D. (2013). Evaluation of inbreeding depression in Holstein cattle using whole-genome SNP markers and alternative measures of genomic inbreeding. *J. Dairy Sci.*, 96(7):4697–706. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6435>
11. Boettcher, P. J., Tixier-Boichard, M., Toro, M. A., Simianer, H., Eding, H., Gandini, G., Ajmone-Marsan, P., GLOBALDIV Consortium. (2010). Objectives, criteria and methods for using molecular genetic data in priority setting for conservation of animal genetic resources. *Anim. Genet.*, 41 (1):64-77. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2010.02050.x>
12. Bosse, M., Megens, H. J., Madsen, O., Paudel, Y., Frantz, L. A. F., Schook, L. B. (2012). Regions of homozygosity in the porcine genome: consequence of demography and the recombination landscape. *PLOS Genet.*, 8 (11):e1003100. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003100>

13. Broman, K. W., Weber, J. L. (1999). Long Homozygous Chromosomal Segments in Reference Families from the Centre d'Étude du Polymorphisme Humain. *Am. J. Hum. Genet.*, 65(6):1493–1500.
14. Caballero, A., Toro, M. A. (2002). Analysis of genetic diversity for management of conserved subdivided population. *Conserv. Genet.*, 3, 289-299.
15. Charlesworth, B., Charlesworth, D. (1999). The genetic basis of inbreeding depression. *Genet. Res.*, 74:329–340.
16. Charlesworth, D., Willis, J.H. (2009). The genetics of inbreeding depression. *Nature Reviews, Genetics*, 10:783-796.
17. Corbin, L. J., Blott, S. C., Swinburne, J. E., Vaudin, M., Bishop, S. C., Woolliams, J. A. (2010). Linkage disequilibrium and historical effective population size in the thoroughbred horse. *Anim. Genet.*, 41(2):8-15.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2010.02092.x>
18. Corbin, L.J, Liu, A.Y.H., Bishop, S.C., Woolliams, J.A. (2012). Estimation of historical effective population size using linkage disequilibria with marker data. *J. Anim. Breed. Genet.*, 129:257–270.
19. Crispim, B. A., Grisolia, A. B., Seno, L. O., Egito, A. A., Vargas Junior, F. M., Souza, M. R. (2013). Genetic diversity of locally adapted sheep from Pantanal region of Mato Grosso do Sul. *Genet. Mol. Res.*, 12 (4):5458-5466.  
<https://doi.org/10.4238/2013>
20. Curik, I., Ferenčaković, M., Sölkner, J. (2014). Inbreeding and runs of homozygosity: A possible solution to an old problem. *Livest. Sci.*, 166(1):26–34.  
<https://doi.org/10.1016/j.livsci.2014.05.034>
21. Dalvit, C., Sacca, E., Cassandro, M., Gervaso, M., Pastore, E., Piasentier, E. (2008). Genetic characterization of Alpine sheep breeds. *Acta agriculturae Slovenica*, 2:79–84.
22. Delgado, J.V. (2012). Conservación de los recursos genéticos animales y los sistemas de explotación tradicionales dentro del programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo (CYTED). *Arch. Zootec.*, 51:15-23.
23. De la Barra, R., Uribe, H., Latorre, E., San Primitivo, F., Arranz, J. (2010). Genetic structure and diversity of four Chilean sheep breeds. *Chil. J. Agr. Res.*, 70(4):646-651.
24. DIEA. (2016). Anuario estadístico agropecuario. Montevideo.
25. Du, F. X., Clutter, A. C., Lohuis, M. M. (2007). Characterizing linkage disequilibrium in pig populations. *Int. J. Biol. Sci.*, 3(3):166-178.  
<https://doi.org/10.7150/ijbs.3.166>

26. Falconer, D.S., Mackay, T.F.C. (1996). *Introduction to Quantitative Genetics*. 4th ed. Harlow, UK: Pearson Education Limited.
27. FAO. (1992). Segundo Documento de Líneas Directrices para la Elaboración de Planes Nacionales de Gestión de los Recursos Genéticos de Animales de Granja Gestión de pequeñas poblaciones en peligro. (Disponible en <http://www.fao.org/3/a-w9361s.pdf>).
28. FAO. (2001). Boletín de información sobre recursos genéticos animales. Roma, Italia. (Disponible en <http://www.fao.org/docrep/004/y1100m/y1100m00.htm>).
29. FAO. (2007). El estado mundial de la agricultura y la alimentación, Roma, Italia. (Disponible en <http://www.fao.org/docrep/010/a1200s/a1200s00.htm>).
30. FAO. (2010). La situación de los recursos zoogenéticos mundiales para la alimentación y la agricultura, (disponible en <http://www.fao.org/docrep/011/a1250s/a1250s00.htm>) (traducción de la versión original en inglés, 2007).
31. FAO. (2015). The second report on the state of the World's Animal Genetic Resource for Food and Agriculture, Roma, Italia. (Disponible en <http://www.fao.org/3/a-i4787e.pdf>).
32. Ferenčaković, M., Hamzić, E., Gredler, B., Solberg, T. R., Klemetsdal, G., Curik, I., Sölkner, J. (2013a). Estimates of autozygosity derived from runs of homozygosity: Empirical evidence from selected cattle populations. *J. Anim. Breed. Genet.*, 130(4):286–293. <https://doi.org/10.1111/jbg.12012>
33. Ferenčaković, M., Sölkner, J., Curik, I. (2013b). Estimating autozygosity from high-throughput information: effects of SNP density and genotyping errors. *Genet., Sel., Evol.*, 45:42. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-45-42>
34. Fernández, G. (2000). Situación de los recursos genéticos domésticos locales del Uruguay. *Arch. Zootec.*, (49):187:333-340.
35. Fernández, M.P., Remedi, M.A. (2015). Estudio epidemiológico parcial de las helmintiasis gastrointestinales en un rebaño de ovinos Criollos del este del país. Tesis de grado, Facultad de Veterinaria, Uruguay.
36. Fernández, J., Toro, M. A., Gómez-Romano, F., Villanueva, B. (2016). The use of genomic information can enhance the efficiency of conservation programs. *Animal Frontiers*, 6(1): 59-64. <https://doi.org/10.2527/af.2016-0009>
37. Flury, C., Tapio, M., Sonstegard, C., Drogemuller, C., Leeb, T., Simianer, H., Hanotte, O., Rieder, S. (2010). Effective population size of an indigenous Swiss cattle breed estimated from linkage disequilibrium. *J. Anim. Breed. Genet.*, 127:339–347.

38. Frankham, R., Ballou, J., Briscoe, D. (2002). Introduction to conservation genetic. 1th ed. United Kingdom, University Press Cambridge.
39. García-Gómez, E., Sahana, G., Gutiérrez-Gil, B., Arranz, J.(2012). Linkage disequilibrium and inbreeding estimation in Spanish Churra sheep. BMC Genet., 13(1): 43. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-13-43>
40. Gómez-Romano, F., Vilanueva, B., Rodríguez de Cara, M.A, Fernández,J. (2013). Maintaining genetic diversity using molecular coancestry: the effect of marker density and effective population size. Genet. Sel. Evol., 45:38.
41. Gómez-Romano, F. (2015). Gestión de la diversidad genética en programas de conservación utilizando datos de genotipado masivo. Tesis doctoral Universidad Complutense de Madrid Facultad de Ciencias Biológicas Departamento de Genética. <http://eprints.ucm.es/32997/1/T36340.pdf>
42. Grasso, A. N., Goldberg, V., Navajas, E. A., Iriarte, W., Gimeno, D., Aguilar, I., Medrano, J.F, Rincón, G., Ciappesoni, G. (2014). Genomic variation and population structure detected by single nucleotide polymorphism arrays in Corriedale, Merino and Creole sheep. Genet. Mol. Biol., 37(2):389–395. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572014000300011>
43. Gutiérrez-Gil, B., García-Gómez, E., Suárez-Vega, A., Sánchez, J.P., Kijas, J., Calvo, J.H., International Sheep Genomics Consortium (ISGC), Arranz J.J. (2011). Análisis de la utilidad para estudios genómicos del “Illumina Ovine SNP 50BeadChip” en razas ovinas españolas. [http://acteon.webs.upv.es/CONGRESOS/AIDA%202011/Gutierrez-Gil\\_AIDA2011.pdf](http://acteon.webs.upv.es/CONGRESOS/AIDA%202011/Gutierrez-Gil_AIDA2011.pdf)
47. Hamzić, E. (2011). Division of Livestock Sciences Levels of Inbreeding Derived from Runs of Homozygosity: A Comparison of Austrian and Norwegian Cattle Breeds. Am. J. Hum. Genet.
48. Herrero-Medrano, J.M., Megens, H.J., Groenen, M.A.M., Ramis, G., Bosse, M., Perez Enciso, M., Crooijmans, R.P.M.A. (2013) Conservation genomic analysis of domestic and wild pig populations from the Iberian Peninsula. BMC Genet., 14, 106.
49. Hill, W.G., Robertson, A. (1968) Linkage disequilibrium in finite populations. Theor. Appl. Genet., 38:226–31.
50. Hill, W. G. (1975). Linkage disequilibrium among multiple neutral alleles produced by mutation in finite population. Theor. Popul. Biol., 8:117-126.
51. Holt, M., Meuwissen, T., Vangen, O. (2005). The effect of fast created inbreeding on litter size and body weights in mice. Genet. Sel. Evol., 37:523–537.

52. Howrigan, D. P., Simonson, M. A., Keller, M. C. (2011). Detecting autozygosity through runs of homozygosity: a comparison of three autozygosity detection algorithms. *BMC Genom.*, 12(1), 460. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-12-460>
52. Iriarte, W. (2010). Estudio de diversos estimadores del crecimiento en una muestra de ovinos Criollos uruguayos. Proyecto de investigación, financiado por la Comisión de Investigación y Desarrollo Científico.
53. Keller, M. C., Visscher, P. M., Goddard, M. E. (2011). Quantification of inbreeding due to distant ancestors and its detection using dense single nucleotide polymorphism data. *Genetics*, 189(1): 237–249. <https://doi.org/10.1534/genetics.111.130922>
54. Kijas, J.W., Townley, D., Dalrymple, B.P., Heaton, M.P., Maddox, J.F., McGrath, A., Wilson, P., Ingersoll, R.G., McCulloch, R., McWilliam, S., Tang, D., McEwan, J., Cockett, N., Oddy, V.H., Nicholas, F.W., Raadsma, H.; International Sheep Genomics Consortium. (2009). A genome wide survey of SNP variation reveals the genetic structure of sheep breeds. *PLoS One*, 4(3):e4668. [doi: 10.1371/journal.pone.0004668](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004668).
55. Kijas, J. W., Lenstra, J. A., Hayes, B., Boitard, S., Neto, L. R., Cristobal, M. S., Servin, B., McCulloch, R., Whan, V., Gietzen, K., Piva, S., Barendse, W., Ciani, E., Raadsma, H., McEwan, J., Dalrymple, B. (2012). Genome-wide analysis of the world's sheep breeds reveals high levels of historic mixture and strong recent selection. *PLoS Biol.*, 10(2): e1001258. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001258>
56. Kijas, J. W., Porto-Neto, L., Dominik, S., Reverter, A., Bunch, R., McCulloch, R., Hayes, B.J., Brauning, R., McEwan, J. (2014). Linkage disequilibrium over short physical distances measured in sheep using a high-density SNP chip. *Animal Genetics*, 45(5): 754–757. <https://doi.org/10.1111/age.12197>
57. Larrosa, J.R. (1988). Curso de Tecnología Textil. Apunte de Lana Facultad de Veterinaria, pág. 150.
58. Llambí, S., Gagliardi, R., Martínez, M., Estevez, J., Gorozurreta, A., Costa, G., Bianco, C., Artigas, R., Arruga, M.V. (2008). Analysis of two populations of the Uruguayan canine breed Cimarron (*Canis familiaris*) using RAPD markers. *Revista MVZ Córdoba* 13(3):1464-1468.
59. Macedo F., Pieruccioni F., Llambí S., Pereira D., Navajas E.A. (2014). Primeros datos sobre intervalo entre partos en hembras de la población de ovinos Criollos del Parque Nacional de San Miguel, Uruguay. *AICA*, 4:25-27.
60. Mastrangelo, S., Di Gerlando, R., Tolone, M., Tortorici, L., Sardina, M. T., Portolano, B. (2014). Genome wide linkage disequilibrium and genetic structure in Sicilian dairy sheep breeds. *BMC Genet.*, 15(1):108. <https://doi.org/10.1186/s12863-014-0108-5>

61. McQuillan, R., Leutenegger, A.L., Abdel-Rahman, R., Franklin, C.S., Pericic, M., Barac-Lauc, L., Smolej-Narancic, N., Janicijevic, B., Polasek, O., Tenesa, A., Macleod, A.K., Farrington, S.M., Rudan, P., Hayward, C., Vitart, V., Rudan, I., Wild, S.H., Dunlop, M.G., Wright, A.F., Campbell, H., Wilson, J.F. (2008). Runs of homozygosity in European populations. *Am. J. Hum. Genet.*, 83(3):359-372. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2008.08.007>
62. McVean, G.A.T. (2002). A genealogical interpretation of linkage disequilibrium. *Genetics*, 162:987–91.
63. Mernies, B; Filoneko, Y; Macedo, F. (2005a). Estudio preliminar de caracteres plásticos y fanerópticos en una muestra de ovinos Criollos uruguayos. Resúmenes del “V Simposio de Recursos Genéticos de América Latina y el Caribe, pág. 111. Montevideo, Uruguay.
64. Mernies, B; Filoneko, Y; Macedo, F. (2005b). Estudio morfométrico de una muestra de ovinos Criollos uruguayos. Datos preliminares. Resúmenes del “V Simposio de Recursos Genéticos de América Latina y el Caribe, pág. 111. Montevideo, Uruguay.
65. Mernies, B; Macedo, F; Filonenko, Y; Fernández, G. (2007). Índices zoométricos en una muestra de ovejas criollas uruguayas. *Arch. Zootec.*, 56(1):473-478.
66. Mernies, B; Macedo, F; Peralta, D; Fernández, G. (2008). Aspectos relacionados con la permanencia del ovino Criollo en territorio uruguayo. IX Simposio Iberoamericano sobre conservación y utilización de recursos zoo-genéticos, Mar del Plata - Buenos Aires, Argentina.
67. Mernies, B., Saadoun, A. (2014). Ácidos grasos en los músculos Psoas major, Gluteus medius y Longissimus dorsi de ovinos Criollos uruguayos. V Congreso de la asociación uruguaya de producción animal (AUPA), Montevideo, Uruguay. ([http://www.alpa.org.ve/ojs/index.php/ojs\\_files/article/viewFile/2518/905](http://www.alpa.org.ve/ojs/index.php/ojs_files/article/viewFile/2518/905))
68. Montenegro, M., Llambí, S., Castro, G., Barlocco, N., Vadell, A., Landi, V., Delgado, J.V., Martínez, A. (2015). Genetic characterization of Uruguayan Pampa Rocha pigs with microsatellite markers. *Genet. Mol. Biol.*, 38(1):48-54. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-475738120140146>
69. Montossi, F.; De Barbieri, I.; Ciappesoni, G.; San Julián, R.; Luzardo, S.; Nolla, M.; Mederos, A.; Silveira, C.; Platero, P.; Risso, D. y Ravagnolo, O. (2006). Producción de carne y lana de la raza Merino Dohne en cruzamiento en sistemas ganaderos semi extensivos de la región de Basalto. Día de Campo; Producción Animal y Pasturas. Tacuarembó: INIA. Serie de Actividades de Difusión N° 473:22-24.
70. Montossi, F., De Barbieri, I., Ciappesoni, G., Ganzabal, A., Bancharo, G., Soares de Lima, J., Brito, G., Luzardo, S., San Julian, R., Silveira, C., Vazquez, A. (2011). Análisis y aportes del INIA para una ovinocultura más innovadora y competitiva. *El País Agropecuario*, 30–33.

71. Nei, M. (1973). Analysis of Gene Diversity in Subdivided Populations. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 70(12):3321-3323.
72. Nothnagel, M., Lu, T. T., Kayser, M., Krawczak, M. (2010). Genomic and geographic distribution of snp defined runs of homozygosity in Europeans. *Hum. Mol. Genet.*, 19(15):2927–2935. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddq198>
73. Nsengimana, J., Baret, P., Haley, C.S., Visscher, P.M. (2016). Linkage Disequilibrium in the Domesticated Pig. *Genetics*, 166:1395–1404.
74. Pedraza, P., Peralta M., Perezgrovas, R. (1992). El borrego Chiapas: una raza local mexicana de origen español. *Arch. Zootec.*, 41(extra): 355-362.
75. Pemberton, T. J., Absher, D., Feldman, M. W., Myers, R. M., Rosenberg, N. A., Li, J. Z. (2012). Genomic patterns of homozygosity in worldwide human populations. *Am. J. Hum. Genet.*, 91(2):275–292. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2012.06.014>
76. Pérez, E; Methol, R; Coronel, F. (1986). Apuntes de lanares y lanas. Razas. Secretariado Uruguayo de la Lana. Pág. 129. Montevideo, Uruguay.
77. Pertoldi, C., Purfield, D.C, Berg, P., Jensen, T. H., Bach, O. S., Vingborg, R., Kristensen, T. N. (2014). Genetic characterization of a herd of the endangered Danish Jutland cattle. *J. Anim. Sci.*, 92:2372–2376. [doi:10.2527/jas2013-7206](https://doi.org/10.2527/jas2013-7206)
78. Pieruccioni, F. (2012). Descripción cuantitativa del crecimiento pre-destete de los ovinos Criollos del parque nacional de san miguel. Tesis de grado, Facultad de veterinaria de la Universidad de la República, Uruguay.
79. Postiglioni, A., Rincón, G., Kelly, L., Llambí, S., Fernández, G., D'Angelo, M., Gagliardi, G., Trujillo, J., de Bethencourt, M., Guevara, K., Castellano, A., Arruga, M. V. (2002). Biodiversidad genética en bovinos Criollos del Uruguay. Análisis con marcadores moleculares *Arch. Zootec.*, 51(194):195- 202.
80. Purfield, D. C., Berry, D. P., McParland, S., Bradley, D. G. (2012). Runs of homozygosity and population history in cattle. *BMC Genet.*, 13(1):1–11. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-13-70>
81. Recalde, E. (2013). Producción ovina: situación y perspectivas. Anuario 2013 – OPYPA
82. Rincón, G., D'Angelo, M., Gagliardi, R., Kelly, L., Llambí, S., Postiglioni, A. (2000). Genomic polymorphism in Uruguayan Creole cattle using RAPD and microsatellite markers. *Res. Vet. Sci.*, 69:171-174
83. Rodríguez-Ramilo, S. T., Fernández, J., Toro, M. A., Hernández, D., & Villanueva, B. (2015). Genome-Wide estimates of coancestry, inbreeding and effective



- population size in the Spanish Holstein population. PLOS ONE, 10(4):1–11.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124157>
84. Saura, M., Fernández, A., Rodríguez, M.C., Toro, M.A., Barragán, C., Fernández, A.I., Villanueva, B. (2013). Genome-Wide Estimates of Coancestry and Inbreeding in a Closed Herd of Ancient Iberian Pigs. Plos ONE 8(10):e78314.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078314>
  85. Saura, M., Fernández, A., Varona, L., Fernández, A.I., de Cara, M.A.R, Barragán,C., Villanueva, B. (2015). Detecting inbreeding depression for reproductive traits in Iberian pigs using genome-wide data. Genet. Sel. Evol., 47:1.
  86. Slatkin, M. (2008). Linkage disequilibrium--understanding the evolutionary past and mapping the medical future. Nature Reviews. Genetics, 9(6):477–85.  
<https://doi.org/10.1038/nrg2361>
  87. Sved, J.A. (1971) Linkage disequilibrium and homozygosity of chromosome segments in finite populations. Theor. Popul. Biol., 2:125–41.
  88. Toro, M., Fernández, J., Caballero, A. (2009). Molecular characterization of breeds and its use in conservation. Livest. Sci, 120:174–195.
  89. Toro, M. A., Villanueva, B., Fernández, J. (2014). Genomics applied to management strategies in conservation programmes. Livest. Sci., 166:48-53.  
<https://doi.org/10.1016/j.livsci.2014.04.020>
  90. Vignal, A., Milan, D., San Cristobal, M., Eggen, A. (2002). A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. Genet. Sel. Evol., 34:275-305.
  91. Waples R.S. (1989). A generalized approach for estimating effective population size from temporal changes in allele frequency. Genetics, 121:379-391.
  92. Wright, S. (1931). Evolution in Mendelian populations. Genetics 16, 97–159.
  93. Zanella, R., Peixoto, J. O., Cardoso, F. F., Cardoso, L. L., Biegelmeyer, P., Cantão, M. E., Otaviano, A., Freitas, M.S, Caetano, A.R., Ledur, M. C. (2016). Genetic diversity analysis of two commercial breeds of pigs using genomic and pedigree data. Genet. Sel. Evol., 48(1):24.  
<https://doi.org/10.1186/s12711-016-0203-3>
  94. Zhu, M., Zhu, B., Wang, Y. H., Wu, Y., Xu, L., Guo, L. P. (2013). Linkage disequilibrium estimation of Chinese beef Simmental cattle using high-density SNP panel. Asian-Australas J. Anim.Sci., 26(6):772-779.  
<https://doi.org/10.5713/ajas.2012.12721>