



**IDENTIFICACIÓN DE MUTACIONES EN REGIONES PROMOTORAS EN UN
ESPÉCIMEN DE LA RAZA GYR (*BOS INDICUS*) CON DESORDEN DEL
DESARROLLO SEXUAL**

SIMÓN CADAVID MORALES

Tesis de Grado

Asesor

Daniel Jaime Guzmán Zapata

UNIVERSIDAD EAFIT

Escuela de Ciencia e Ingeniería

Biología

Medellín

2024

Resumen

Este estudio investiga la base genética de una alteración en el desarrollo sexual en un espécimen de *Bos indicus* (raza Gyr), caracterizado por presentar órganos sexuales masculinos y femeninos malformados. Aunque la infertilidad es un tema ampliamente estudiado en humanos, en especies como el ganado su exploración es limitada, a pesar del impacto económico asociado. Para identificar las causas de esta anomalía, se secuenció el genoma completo del animal y se comparó con el genoma de referencia "UOA_Brahman_1". Las herramientas bioinformáticas IGV y MEME Suite permitieron detectar polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs), inserciones y deleciones en secuencias no codificantes. Entre los genes analizados, INSL3, esencial para el descenso testicular en mamíferos, mostró mutaciones significativas en su región promotora, incluida una deleción relevante que podría explicar el desarrollo sexual atípico observado. Las variaciones se encontraron en su mayoría en regiones intergénicas, indicando que el problema parece originarse en la regulación génica y no en la síntesis de proteínas. Este trabajo representa uno de los primeros análisis detallados de malformaciones sexuales en *Bos indicus*, destacando cómo mutaciones en zonas promotoras pueden estar vinculadas a anomalías en el desarrollo sexual. Los resultados ofrecen una base para futuras investigaciones sobre la genética de la infertilidad en bovinos, con implicaciones para el manejo y la identificación temprana de estos problemas en la industria ganadera, apoyando el desarrollo de prácticas zootécnicas mejoradas.

Introducción

Dentro de la historia de la fisiología, uno de los estudios que ha desempeñado un papel crucial en su desarrollo como complemento al conocimiento anatómico es el análisis profundo de aberraciones sexuales, con especial énfasis en las condiciones en las que un neonato humano podía poseer estas características que le imposibilitaban la reproducción. Con la apertura genética en la investigación de las causas de las malformaciones sexuales y la nueva capacidad de examinación de cariotipos se pudieron encontrar en estas evaluaciones de los individuos que algunos de estos presentaban los posteriormente llamados síndromes sexuales, pues poseían un número dispar de cromosomas a las referencias sin enfermedades (Witchel, 2018). Diversos síndromes derivados de aneuploidías, entendiéndose este término como la mala disposición cromosómica en un individuo, como el descrito por Klinefelter y que recibió luego su nombre, donde está comprendido la disposición cromosómica que presenta así como las posibles causas de que se presente (Storchova, 2012). Los estudios más recientes inclusive exploran no solo desordenes sexuales desde la mala partición por parte del uso mitótico en las primeras meiosis en las etapas tempranas del desarrollo, también se han hallado alteraciones anatómicas por las condiciones de desarrollo e inclusive polimorfismos de un solo nucleótido que alteran la expresión de genes sexuales (Storchova, 2012; Öçal, 2011).

Si bien lo anterior está altamente especificado en humanos y se puede extrapolar algunas de sus explicaciones al resto de mamíferos, los estudios en otras especies asociados a este grupo no son tan abundantes ni diversos como en *Homo sapiens*. Uno de estos casos y el énfasis de este trabajo comprende a *Bos indicus* o cebú la cual es una de las especies con mayor utilización por parte de la industria ganadera en el mundo (Feuz *et al.*, 2022; McDowell *et al.*, 1996). También conocido como ganado brahmán, es una subespecie de bovinos domésticos dentro de la familia Bovidae y del género *Bos*, diferenciándose del ganado europeo (*Bos taurus*) (Canavez *et al.*, 2012). Su origen se remonta al subcontinente indio, y su evolución está adaptada a climas tropicales, lo que le confiere una mayor resistencia al calor, parásitos y enfermedades tropicales (McDowell *et al.*, 1996). Si bien compite con *Bos taurus* por la calidad de la proteína, el cebú se ha utilizado ampliamente en los territorios con condiciones como temperaturas elevadas, para los cuales se ha demostrado que tiene una

resiliencia ante estas adversidades propicia para producción tanto de lácteos como carne (Hu *et al.*, 2020; Torres-Júnior y Henry, 2005). No solo demuestra características competitivas en estos campos al ser cruzado con miembros de la vaca europea, sino que tiene un mejor desarrollo sexual en regiones como el neotrópico haciéndolo de alta competitividad en la distribución por el continente americano (Brito *et al.*, 2004; McDowell *et al.*, 1996). En Colombia es la especie con más alta distribución contando con 26 millones de individuos, alrededor del 99% de la composición del ganado en este territorio suramericano son cebú puro o cruces con otras especies de bovinos (ICA, 2024).

En la ganadería existe un mayor bagaje teórico sobre el estudio de la infertilidad en relación con el impacto económico que el interés puntual en conocer las causas de la infertilidad en los individuos lo que conduce usualmente a tomar la decisión de sacrificar a los individuos con estas problemáticas sexuales antes de realizar investigaciones profundas, a parte debido al gasto anual de manutención de un solo individuo con deficiencias reproductivas, que puede ascender a los 2000 USD anuales (Bellows *et al.*, 2002; Bó *et al.*, 2003; Kumaresan *et al.*, 2021; Lamb *et al.*, 2008; Prevatt *et al.*, 2018). Además solo hace 10 años se secuenció por primera vez el genoma completo para la especie (Canavez *et al.*, 2012). Por lo cual se ha invertido en la exploración y entendimiento de los desórdenes sexuales en esta clase de especies de interés económico (Kumaresan *et al.*, 2021). La infertilidad no siempre está ligada a las malformaciones sexuales, son una sección de todo este fenómeno descrito que aún requiere un mayor ahondamiento por parte de la veterinaria, zootecnia y la fisiología animal (Gulia *et al.*, 2010; Lim *et al.*, 2015).

Dentro de esta exploración y la razón de nuestro proyecto se encuentra un individuo de una cabeza ganadera en el departamento de Antioquia, de la raza Gyr, la cual presentaba anatómicamente órganos sexuales malformados desarrollando tanto las formación femenina como masculina, ambos órganos con una mal función y sin producción de gametos como se puede apreciar en la **Figura 1**. Antes del sacrificio del individuo se pudo tomar un tejido del cual se procedió a observar su cariotipo, el cual regreso sin aneuploidías en ninguno de sus cromosomas (**Figura 1**). Esto es un fenómeno que si bien en humanos, como se expresó anteriormente, es bien conocido que puede producirse, en bovinos y sobre todo en el cebú no está totalmente catalogado las posibles mutaciones sexuales que un individuo pueda poseer

en la formación de este fenotipo. En este artículo se pretende explorar a partir de tejido de este individuo los posibles cambios a nivel genómico y observar el fenómeno desde la perspectiva de las bases que componen distintas zonas de interés genómicas relacionados con las mutaciones estructurales.



Figura 1. (A) Comparativa entre el individuo con malformaciones sexuales en la izquierda frente a individuo de *Bos indicus* normal a su derecha. (B) Presencia de formación del órgano masculino dentro de la vulva femenina. (C) Cariotipo del animal, visualizándose un número cromosómico normal. (D) Células de Sertoli sin producción presente de gametos. Imágenes provistas por Daniel Guzmán.

Metodología

Toma de tejido y envío de secuenciación

El estudio del fenómeno previamente mencionado se vio influenciado a partir del sacrificio del individuo, que a su vez permitió por parte del dueño ganadero la extracción de tejido pulmonar. El tejido se envió a Admera Health (<https://www.admerahealth.com/genomic>) donde proveen el servicio de secuenciación del genoma completo y sus anotaciones. Este proceso se realiza con el secuenciador Illumina que garantiza la cobertura en la determinación de SNPs, CNV y variaciones estructurales necesarias para el análisis del genoma del individuo. Se comparó el genoma del individuo frente a la información de “UOA_Brahman_1” (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF_003369695.1/). En este caso no se comparó directamente con el genoma de *Bos indicus* reportado para este mismo sitio debido a que se desconoce para este individuo de que cruce bovino proviene y son más abundantes las anotaciones genómicas para este genoma de referencia de Brahman (cruce *Bos indicus* x *Bos taurus*).

Análisis de los reads a través de IGV con un genoma de referencia, modificación de los cromosomas y extracción de las secuencias consenso

Una vez recibidos los archivos .bam donde se encuentra la información de todos los reads por sección del RefSeq, se modificaron los archivos de la referencia para que cada sección del genoma se ubicase de forma correcta con los resultados de secuenciación. Una vez procesados los archivos cambiando el identificador de cada cromosoma por su número de convención, se visualizaron los archivos usando el software IGV. Mediante este recurso bioinformático se analizaron los nucleótidos teniendo en cuenta SNP, inserciones y deleciones. Cada una de la anteriores tiene una representación específica en este software, teniendo en cuenta la diferencia porcentual por nucleótido, es decir, se detecta automáticamente si no existe una correspondencia entre la referencia suministrada y los reads disponibles. Con estos precedentes se extrajeron las mutaciones mediante las secuencias consenso en forma de .txt que genera IGV a partir de la información de los reads.

Procesamiento en la identificación de motivos nucleotídicos con MEME y Tomtom

Para encontrar los motivos nucleotídicos se utilizó el software “The MEME Suite” (Bailey *et al.*, 2015) para identificar en cada una de las secuencias consenso las zonas donde es posible que un motivo nucleotídico se encuentre. Para ver la identificación de la región del motivo se utilizó la herramienta “MEME” (Bailey y Elkan, 1994) y se buscaron 10 motivos comparando las secuencias consenso con el genoma de referencia. Se buscaron 5 motivos por comparación y se usó su modo clásico ya que se pretendía visualizar por primera vez que motivos detectaban. Se tomó el motivo estadísticamente más significativo a partir del e-value y se introdujo la información en la herramienta “Tomtom” (Gupta *et al.*, 2007) que identifica y compara el motivo frente a una base de datos para encontrar factores de transcripción concordantes con la secuencia suministrada. Se comparó frente a la base de datos de vertebrados permitida por la herramienta. Con las herramientas anteriores se puede conocer la localización de los motivos rastreados, su importancia estadística en la secuencia suministrada y su identidad en referencia al factor de transcripción al cual están relacionados.

Regiones cromosómicas como referencia para encontrar las mutaciones

Teniendo en cuenta del tamaño promedio del genoma bovino, aproximadamente 679 millones de bases, se optó por realizar una preselección de genes relacionados con el desarrollo sexual y organogénico en *Bos indicus* (Colorado Garzón, Camacho y Sánchez, 2012; Rodríguez-Montes *et al.*, 2023; Xie *et al.*, 2022). Con esto se enfocará la investigación a las regiones del cromosoma que tienen un rol más conocido y activo en las etapas del desarrollo de las testes y las posibles explicaciones del origen genómico de las malformaciones del individuo. La lista de genes escogidos son SOX9, AMH, DHH, DMRT1, NR5A1, SF1, GATA4, FGF9, WNT4, AR, INSL3, STAR, BMPR1B, BMP7, SOX8, FOXL2, RSPO1, LIN28A, DHX37, KITLG, NR0B1, HOXA13, HOXD13, NPR2, TSHR, SHH, VCAN, ST6GALNAC3, ZFX, SCYL1, SUV39H2, NR0B2, PPARGC1B, PPARGC1A, INHA, ESR1, ESR2, LHX1, LHX9, NR2E1, BMP2, IHH y GLI2.

Resultados

El reporte de multiqc, el cual es el resumen visual provisto por la compañía para realizar las observaciones de la calidad, cantidad y profundidad de los alineamientos, arrojó una paridad frente al genoma de referencia del 88.9%, es decir, en el genoma del individuo estudiado de cada 100 bases apareadas se encuentran discordancias aproximadamente 8 bases. Como se ha expuesto anteriormente estas bases desapareadas pueden hacer referencia a SNPs, inserciones, deleciones, incluso problemas de secuenciación probables por el tamaño del genoma. En total se detectaron más de 17 millones de variantes en el genoma. De estas variantes reportadas el 88.5% corresponden a polimorfismos, 5.8% de inserciones y 5.5% deleciones (**Figura 2**). El informe complementaria del “VEP run” reporta una mayor presencia de variaciones en las regiones intergénicas del genoma (51% de las variaciones, obsérvese la **Figura 2**), es decir, que las regiones extragénicas es más probable encontrar las mutaciones de señalizadores de factores de transcripción y no dentro de los genes, más conocidos como motivos nucleotídicos. A partir de este resultado y del conjunto de genes seleccionados se exploraran los 500 nucleótidos antecesores del primer exón, pues en estas regiones se encuentran 2 elementos como lo son el núcleo del promotor y los señalizadores de factores de transcripción. Estos que permiten a la ARN polimerasa percharse para abrir la doble cadena, generar el ARN mensajero inmaduro y controlar la transcripción de genes.

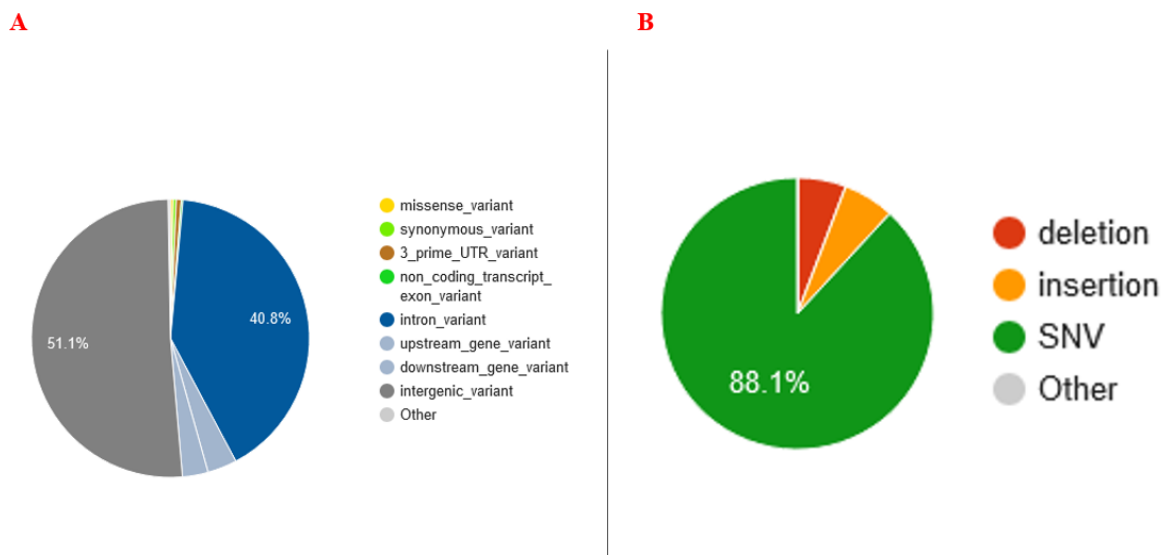


Figura 2. (A) Porcentaje de las variaciones por zona del genoma. (B) Porcentaje de variaciones por tipo de mutación. Obtenido de Vep run de Ensembl.

Se analizaron con estos precedentes 21586 bases en las cuales se encontraron 39 SNPs y 9 de estas zonas presentaban una inserción, deleción o ambas. No se encontraron predominancias o cambios recurrentes de base por base, es decir, no hay un patrón de transiciones o transversiones claro para ninguno de estos polimorfismos encontrados. Se encontró que cada una de estas SNP tenía una discordancia entre no más de 2 bases distintas. No hay una predominancia en la zona donde ocurren las mutaciones. Los 4 genes que presentaron más mutaciones de tipo SNP en su región antecesora fueron LHX9 (5), INSL3 (4), KITLG (3) y TSHR (3). La deleción más grande visualizada se presentó en uno de estos genes mencionados anteriormente, teniendo una deleción de 14 nucleótidos el INSL3. El resto de este tipo de mutaciones, así como las inserciones, eran entre 1-4 nucleótidos. En el material suplementario se pueden encontrar la secuencias consenso de cada uno de los genes reportados con las mutaciones y sus coordenadas respectivas.

Con esta información se procesaron la secuencia consenso frente a la secuencia de referencia en MEME. Para esta preselección de genes realizada solo para uno de ellos se encontró un movimiento de los motivos con respecto al original, de nuevo en la zona no codificante antecesora del gen INSL3. Para cada una de estas comparaciones con el fin de conocer la identidad de los motivos se procesaron los motivos que MEME detectaba con un e-value mayor a 0.05, considerándose como un motivo de significancia estadística. En estas zonas la probabilidad de encontrar una identidad relativa a un factor de transcripción aumenta, así como relacionar distintos cambios y evidenciar si dentro de estos motivos existen las variaciones nucleotídicas encontradas. Con esto se encontraron 38 motivos a lo largo de los genes que presentaron alguna mutación. Cada uno de estos pasaron a la identificación por Tomtom. A partir de estos 38 motivos nucleotídicos se encontraron zonas conservadas relacionadas con 742 factores de transcripción (**Tabla 2B**). De este total se encontraron 13 zonas donde existen mutaciones en las zonas de acople de factores de transcripción, las cuales se muestran en el **Tabla 2**. De estas 13 zonas se identificaron satisfactoriamente los siguientes factores de transcripción: TCFAP2E, CTCF, E2F6, ZNF384, SRF, ELF3, PAX5, NR6A1, ZNF282, OSR2 Y NR2F1.

Gen	Orientación	SNPs	Inserciones/Deleciones	Coordenadas de la región
LHX9	Forward	5	No encontrada	16:76115266-76115766
INSL3	Reverse	4	Delección	7:105140032-105140532
KITLG	Forward	3	No encontrada	5:101873085-101873585
TSHR	Forward	3	No encontrada	10:86073405-86073905
DHH	Reverse	2	No encontrada	5:89570540-89571040
DMRT1	Reverse	2	No encontrada	8:43494587-43495087
BMPR1B	Reverse	2	Inserción/Delección	6:30048065-30048565
RSPO1	Forward	2	Inserción	3:108397833-108398366
HOXA13	Reverse	2	No encontrada	4:50869777-50870277
SHH	Forward	2	No encontrada	4:2398623-2399177
VCAN	Reverse	2	No encontrada	7:27297943-27298443
ESR1	Forward	2	Inserción	9:89026619-89027119
AMH	Reverse	1	No encontrada	7:89236462-89236962
NR5A1	Reverse	1	No encontrada	11:94676678-94677178
GDNF	Forward	1	No encontrada	20:36402036-36402536
SCYL1	Reverse	1	No encontrada	29:7460759-7461259
NR0B2	Forward	1	No encontrada	2:125945732-125946232
PPARGC1B	Reverse	1	No encontrada	7:49729916-49730416
PPARGC1A	Reverse	1	Inserción	6:44275816-44276316
GLI2	Forward	1	No encontrada	2:72413413-72413913
SOX9	Reverse	0	Inserción	19:59916130-59916630
SF1	Forward	0	No encontrada	29:8146080-8146580
GATA4	Reverse	0	No encontrada	8:7531416-7531916
FGF9	Reverse	0	No encontrada	12:35124500-35125000
WNT4	Forward	0	No encontrada	2:130322119-130322619
AR	Forward	0	No encontrada	X:60923319-60923819
STAR	Reverse	0	No encontrada	27:32831488-32831988
BMP7	Reverse	0	No encontrada	13:24544100-24544600

SOX8	Reverse	0	Inserción	25:41751640-41752140
FOXL2	Forward	0	No encontrada	1:129604165-129604665
LIN28A	Reverse	0	Inserción	2:126357987-126358487
DHX37	Reverse	0	No encontrada	17:21967823-21968323
NR0B1	Reverse	0	No encontrada	X:29521418-29521918
HOXD13	Reverse	0	No encontrada	2:20653814-20654314
NPR2	Forward	0	No encontrada	8:59719971-59720417
ST6GALNAC3	Reverse	0	No encontrada	3:68868135-68868635
ZFX	Reverse	0	No encontrada	X:22012094-22012594
SUV39H2	Reverse	0	No encontrada	13:53841973-53842473
INHA	Forward	0	Inserción	2:107401933-107402433
ESR2	Reverse	0	No encontrada	10:70176467-70176967
LHX1	Forward	0	No encontrada	19:14354553-14355047
NR2E1	Reverse	0	No encontrada	9:42054756-42055256
BMP2	Reverse	0	No encontrada	13:34219666-34220166
IHH	Reverse	0	No encontrada	2:106908095-106908595

Tabla 1. Información sobre las zonas no codificantes analizadas y sus mutaciones asociadas. Obtención propia.

Gen	E-value	p-value	Anc ho	Secuencia	Lista de motivos encontrados
PPARG C1B	9.60 E- 06	1.38 E- 33	48	AGAGGACCTCGTTTGATGCCACGATATAGTTTAATA CMGGAAAACAAA	UP00028_2 (Tcfap2e_seco ndary), THRB_DBD_ 3, MA1975.1 (ZNF214), UP00198_1 (Cphx_3484.1)
HOXA1 3	2.60 E- 03	3.68 E- 31	48	TGGGGACAGGTCAGGTAAATCTGCGGGCATCTGGG GACGRATAAGTAT	MA1929.1 (CTCF), MA1576.1 (THRB),

					<p>MA0471.2 (E2F6), MA0139.1 (CTCF), MA1979.1 (ZNF416), MA0597.2 (THAP1), IRX5_DBD</p>
BMPR1 B	8.40 E- 05	1.97 E- 33	50	<p>TTTCTCGGTCATGTGTAAGAAGGGGTTTTTWAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAA</p>	<p>MA1125.1 (ZNF384), UP00077_2 (Srf_secondary), UP00097_2 (Mtf1_seconda ry), MA0679.2 (ONECUT1), Esrra_DBD_2, UP00037_1 (Zfp105_prima ry), MA0052.4 (MEF2A), UP00090_2 (Elf3_secondar y)</p>
INSL3	4.30 E- 02	4.43 E- 31	49	<p>GGCTCCCGAGCTTGACCCYAACAAAAGCAGGAACC CAGGCCAACGCTGC</p>	<p>MA0014.3 (PAX5), MA1709.1 (ZIM3), UP00085_2 (Sfp11_second ary), MA1541.1 (NR6A1),</p>

					MA1154.1 (ZNF282), ZNF282_DBD , MA1646.1 (OSR2), MA1616.1 (Prdm15), NR2F1_full
--	--	--	--	--	---

Tabla 2. Resumen de todos los motivos identificados para los genes donde se encontraron alguna zona con mutación (marcados en rojo). Obtención propia.

Las secuencias completas de cada zona promotora de cada gen se encuentran en el material suplementario de este estudio, con las coordenadas específicas de las mutaciones así como especificaciones sobre su dirección de lectura del gen al que preceden y si contenían deleciones o inserciones. Por último se dispone la tabla complementaria a la **Tabla 2** donde se consigna el resto de los genes observados, así como la identificación de sus motivos (**Tabla 2B**).

Discusión

Inicialmente por el fenotipo evidenciado por el individuo, donde predominantemente las características más llamativas se encuentran en la formación del tejido masculino a la par del femenino como células productoras de gametos sin función aparente (**Figura 1**), se creían la presencia mayor de mutaciones y la aparición de estas en cada uno de los promotores seleccionados. Se puede observar que 24 zonas promotores no poseen ningún SNP (**Tabla 1**), es decir, la mayoría de los promotores antecesores de genes de desarrollo reproductivo no tienen alteraciones frente a un genoma de un individuo sano. Esto podría llevar a pensar que el fenómeno podría no tener un problema como una malformación sexual causada por un error estructural y podría tener un origen anatómico. Esto último, a su vez, parece poco probable ya que ningún otro individuo de la camada del organismo estudiado presentó el fenotipo mutado, es decir, que las condiciones del medio no intervinieron en la consecución de estas malformaciones. Esto justifica la utilización de la herramienta de reconocimiento previamente mencionada para evidenciar que factores en específico de esta muestra están siendo alterados así como relacionar sus funciones específicas con las mutaciones encontradas.

Mediante los resultados mostrados, se cree que la respuesta pueda surgir a partir de la modificación de la modulación de genes y no a la síntesis de proteínas por la uniformidad de las mutaciones encontradas en el informe de secuenciación y las estadísticas de variaciones reportadas en el **Figura 2**. Lógicamente, este estudio deberá proseguir con la identificación de las mutaciones dentro de los genes para garantizar la causa completa del fenómeno. Aunque, ya que existe una formación de tejido masculino y femenino, debería al menos existir una capacidad de los genes en el desarrollo hacia órganos funcionales. Con esto en mente y revisando los 11 factores de transcripción identificados a partir de Tomtom podemos encontrar 5 funcionalidades biológicas como lo son organización genómica y arquitectura del ADN (CTCF, TCFAP2E, ZNF282 y ZNF384) (Cassandri *et al.*, 2017; Kawai *et al.*, 2007; Ong & Corces, 2014; Weber *et al.*, 2010; Xie *et al.*, 2022); mediadores del ciclo y la proliferación celular (E2F6 y SRF) (Xie *et al.*, 2022); diferenciación y desarrollo celular (PAX5, NR6A1, NR2F1 y OSR2) (Chang *et al.*, 2022; Tocco, Bertacchi y Studer, 2021; Xie *et al.*, 2022); respuesta a estímulos (ELF3) (Subbalakshmi *et al.*, 2023); por último receptores

nucleares y moduladores de respuestas hormonales (NR6A1 y NR2F1) (Chang *et al.*, 2022; Tocco, Bertacchi y Studer, 2021).

Con estas funcionalidades y teniendo en mente que cada una de las zonas de reconocimiento está alterada por una mutación específica como se puede evidenciar en las secuencias de la **Tabla 2**. El reconocimiento de motivos nucleotídicos está ligado a su conservación, pues estas regiones promotoras son el centro de regulación génica dentro del entramado del ADN. Principalmente, los 4 factores de transcripción relacionados con la diferenciación y desarrollo se componen de 3 activadores (PAX5, NR6A1, NR2F1) y un supresor (OSR2), es decir, la acción activadora para la regulación en este caso de el gen INSL3 podría no reconocer su zona establecida e impedir que se transcriba la secuencia del gen aledaña. Este gen a su vez está en el top 2 de la **Tabla 1** como el gen que contiene la delección más larga visualizada para la lista de genes seleccionados. INSL3 hace referencia al factor insulinoide 3, que tiene implicación directa no solo en el desarrollo sexual del individuo mediante su cascada de señalización, además permite que se realice el descenso testicular en mamíferos machos en las etapas tempranas del desarrollo cuando el órgano bipotencial aún no ha entrado en contacto con hormonas como la antimülleriana o proteínas como la SRY. Este gen por la cantidad de mutaciones en su zona promotora se cree que podría ser protagonista del fenómeno del animal visualizado.

Si bien este hallazgo es significativo al contrastarse las mutaciones frente a las zonas afectadas pertenecientes a reconocimiento de factores de transcripción, es digno de mención que para la funcionalidad de la disposición genómica y arquitectura para los factores de unión al ADN de este gen también existen mutaciones en los motivos ZNF384 y ZNF282. Por lo cual es posible que factores de transcripción mixtos que están relacionados a la disposición de la secuencia tampoco pueda desarrollar su acción, sin ser directamente de acción activadora/supresora. Esta misma mutación existe para el gen BMPR1, el cual es clave en el desarrollo óseo, la formación de cartílagos y la regulación de la diferenciación celular, lo que podría inferirse que la acción moderadora del promotor del gen está atrofiada a partir de las mutaciones reportadas en este estudio. Este gen a partir de un solo con SNP en el motif es capaz de alterar sus acciones activadoras y moderadora. Este mismo fenómeno se visualiza en los últimos 2 genes donde HOXA13 está relacionado con la determinación de la forma y

ubicación de las diferentes partes del cuerpo a lo largo del eje anteroposterior durante el desarrollo embrionario, mientras que PPARGC1B codifica una proteína que es un coactivador de la transcripción, es decir, que ayuda a activar la transcripción de otros genes al interactuar con factores de transcripción. Se asume que la acción promotora alterada de estos genes con implicación directa tanto en la disposición, desarrollo y diferenciación de órganos sexuales está contribuyendo a la formación del tejido visualizado en la **Figura 1**.

Es crucial mencionar que las inserciones y deleciones visualizadas no tuvieron un impacto significativo en la localización ni reconocimiento de los motivos al ajustar la búsqueda a 5 zonas por promotor. Esto si bien no significa que no exista una implicación dentro de la malformación visualizada en el fenotipo, es posible que los motivos nucleotídicos tengan una mayor afección por los SNPs, pues de lo contrario se hubiese visto menores zonas y disposiciones distintas para el genoma del organismo estudiado. No es sobranse señalar que para INSL3 se reportó una deleción superior a cualquier otra registrada de 14 nucleótidos, lo cual permite observar la translocación de los motivos, que podría desencadenar un reconocimiento anómalo en el promotor.

Conclusiones

Este estudio de las zonas promotoras no codificantes de los genes sexuales en el individuo fenómeno de *Bos indicus* brinda uno de los pocos análisis puntuales realizados en organismos con malformaciones sexuales. La mayoría de los análisis por el interés económico de la especie se refieren a infertilidad general, pero sus causas suelen ser poco abordadas, por lo cual el estudio de estos organismos con ambigüedad en los genitales supone de observaciones novedosas sobre las especies de bovinos y mamíferos. Por lo cual se desconoce específicamente en muchos casos el origen, lo que desemboca en falta de datos. A partir de las secuencias reportadas y el posterior estudio intra-genico se pretende abordar el fenómeno completo. Señalamos a estos 4 genes como posibles protagonistas del fenómeno descrito, por lo cual se propone que las investigaciones posteriores de malformaciones sexuales en la especie tomen como referencia estos genes y zonas promotoras. Sin embargo hay que enmarcar que se detectaron un número de variantes considerable en los intrones, por lo cual es posible que la formación errónea del ARNm a causa de SNPs en la transcripción es factible. Para siguientes estudios seria de interés ampliar la selección de genes para plasmar las tendencias generales en el entramado metabólico beneficiándose a partir de la información de secuenciación y de las zonas promotoras.

Bibliografía

- Bailey, T. L., y Elkan, C. (1994). Fitting a mixture model by expectation maximization to discover motifs in biopolymers. *Proceedings of the International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology ; ISMB*, 2, 28–36.
- Bailey, T. L., Johnson, J., Grant, C. E., y Noble, W. S. (2015). The MEME suite. *Nucleic Acids Research*, 43(W1), W39-49. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv416>
- Bellows, D. S., Ott, S. L., y Bellows, R. A. (2002). Review: Cost of reproductive diseases and conditions in cattle. *The Professional Animal Scientist*, 18(1), 26–32. [https://doi.org/10.15232/s1080-7446\(15\)31480-7](https://doi.org/10.15232/s1080-7446(15)31480-7)
- Bó, G. A., Baruselli, P. S., y Martínez, M. F. (2003). Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. *Animal Reproduction Science*, 78(3–4), 307–326. [https://doi.org/10.1016/s0378-4320\(03\)00097-6](https://doi.org/10.1016/s0378-4320(03)00097-6)
- Brito, L. F. C., Silva, A. E. D. F., Unanian, M. M., Dode, M. A. N., Barbosa, R. T., y Kastelic, J. P. (2004). Sexual development in early- and late-maturing *Bos indicus* and *Bos indicus* x *Bos taurus* crossbred bulls in Brazil. *Theriogenology*, 62(7), 1198–1217. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.01.006>
- Canavez, F. C., Luche, D. D., Stothard, P., Leite, K. R. M., Sousa-Canavez, J. M., Plastow, G., Meidanis, J., Souza, M. A., Feijao, P., Moore, S. S., y Camara-Lopes, L. H. (2012). Genome sequence and assembly of *Bos indicus*. *The Journal of Heredity*, 103(3), 342–348. <https://doi.org/10.1093/jhered/esr153>
- Cassandri, M., Smirnov, A., Novelli, F., Pitolli, C., Agostini, M., Malewicz, M., Melino, G., y Raschellà, G. (2017). Zinc-finger proteins in health and disease. *Cell Death Discovery*, 3, 17071. <https://doi.org/10.1038/cddiscovery.2017.71>
- Chang, Y.-C., Manent, J., Schroeder, J., Wong, S. F. L., Hauswirth, G. M., Shylo, N. A., Moore, E. L., Achilleos, A., Garside, V., Polo, J. M., Trainor, P., y McGlinn, E. (2022). Nr6a1 controls Hox expression dynamics and is a master regulator of vertebrate trunk development. *Nature Communications*, 13(1), 7766. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-35303-4>

Colorado Garzón, F. A., Camacho, N. E. M., y Sánchez, A. (2012). Sex-determination systems and their evolution: Mammals. *Acta Biologica Colombiana*, 17(1), 3–18. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-548X2012000100001

Feuz, R., Reichhardt, C. C., Larsen, R., Thornton, K. J., & Garcia, M. D. (2022). Comparing net returns in the feedlot: *Bos taurus* vs. *Bos indicus* influenced steers with varying anabolic implant intensity. *Translational Animal Science*, 6(3), txac111. <https://doi.org/10.1093/tas/txac111>

Gulia, S., Sarkar, M., Kumar, V., Meyer, H. H. D., y Prakash, B. S. (2010). Divergent development of testosterone secretion in male zebu (*Bos indicus*) and crossbred cattle (*Bos indicus* x *Bos taurus*) and buffaloes (*Bubalus bubalis*) during growth. *Tropical Animal Health and Production*, 42(6), 1143–1148. <https://doi.org/10.1007/s11250-010-9538-x>

Gupta, S., Stamatoyannopoulos, J. A., Bailey, T. L., y Noble, W. S. (2007). Quantifying similarity between motifs. *Genome Biology*, 8(2), R24. <https://doi.org/10.1186/gb-2007-8-2-r24>

Hu, Y., Xia, H., Li, M., Xu, C., Ye, X., Su, R., Zhang, M., Nash, O., Sonstegard, T. S., Yang, L., Liu, G. E., y Zhou, Y. (2020). Comparative analyses of copy number variations between *Bos taurus* and *Bos indicus*. *BMC Genomics*, 21(1), 682. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-07097-6>

ICA. (2024). *Inventario Ganadero*. [fedegan.org.co](https://www.fedegan.org.co). <https://www.fedegan.org.co/estadisticas/inventario-ganadero>

Kawai, S., Yamauchi, M., Wakisaka, S., Ooshima, T., y Amano, A. (2007). Zinc-finger transcription factor odd-skipped related 2 is one of the regulators in osteoblast proliferation and bone formation. *Journal of Bone and Mineral Research: The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 22(9), 1362–1372. <https://doi.org/10.1359/jbmr.070602>

Kumaresan, A., Elango, K., Datta, T. K., y Morrell, J. M. (2021). Cellular and Molecular Insights into the Etiology of Subfertility/Infertility in Crossbred Bulls (*Bos taurus* × *Bos indicus*): A Review. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, 696637. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.696637>

Lamb, G. C., Dahlen, C., y Maddox, M. (2008). What is the Economic Impact of infertility in Beef Cattle?: An208/an208, 8/2008. *EDIS*, 2008(7). <https://doi.org/10.32473/edis-an208-2008>

Lim, H.-J., Yoon, H.-B., Im, H., Park, J., Cho, Y.-I., Jeong, Y.-S., Ki, K.-S., & Im, S.-K. (2015). Survey on the incidence of reproductive disorders in dairy cattle. *Journal of Animal Reproduction and Biotechnology*, 30(1), 59–64. <https://doi.org/10.12750/jet.2015.30.1.59>

McDowell, R. E., Wilk, J. C., & Talbott, C. W. (1996). Economic viability of crosses of *Bos taurus* and *Bos indicus* for dairying in warm climates. *Journal of Dairy Science*, 79(7), 1292–1303. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(96\)76484-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(96)76484-6)

Öçal, G. (2011). Current concepts in disorders of sexual development. *Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology*, 3(3), 105–114. <https://doi.org/10.4274/jcrpe.v3i3.22>

Ong, C.-T., y Corces, V. G. (2014). CTCF: an architectural protein bridging genome topology and function. *Nature Reviews. Genetics*, 15(4), 234–246. <https://doi.org/10.1038/nrg3663>

Prevatt, C., Lamb, G. C., Dahlen, C., Mercadante, V. R. G., y Waters, K. (2018). What is the economic impact of infertility in beef cattle? *EDIS*, 2018(4). <https://doi.org/10.32473/edis-an208-2018>

Rodríguez-Montes, L., Ovchinnikova, S., Yuan, X., Studer, T., Sarropoulos, I., Anders, S., Kaessmann, H., y Cardoso-Moreira, M. (2023). Sex-biased gene expression across mammalian organ development and evolution. *Science (New York, N.Y.)*, 382(6670), eadf1046. <https://doi.org/10.1126/science.adf1046>

Storchova, Z. (Ed.). (2012). *Aneuploidy in Health and Disease*. InTech.

Subbalakshmi, A. R., Sahoo, S., Manjunatha, P., Goyal, S., Kasiviswanathan, V. A., Mahesh, Y., Ramu, S., McMullen, I., Somarelli, J. A., y Jolly, M. K. (2023). The ELF3 transcription factor is associated with an epithelial phenotype and represses epithelial-mesenchymal transition. *Journal of Biological Engineering*, 17(1), 17. <https://doi.org/10.1186/s13036-023-00333-z>

Tocco, C., Bertacchi, M., y Studer, M. (2021). Structural and functional aspects of the neurodevelopmental gene NR2F1: From animal models to human pathology. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 14, 767965. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2021.767965>

Torres-Júnior, J. R. S., y Henry, M. (2005). Sexual development of Guzerat (*Bos taurus indicus*) bulls raised in a tropical region. *Animal Reproduction*, 2(2). <https://animal-reproduction.org/journal/animreprod/article/5b5a6086f7783717068b47ef>

Weber, S., Eckert, D., Nettersheim, D., Gillis, A. J. M., Schäfer, S., Kuckenberg, P., Ehlermann, J., Werling, U., Biermann, K., Looijenga, L. H. J., y Schorle, H. (2010). Critical function of AP-2 gamma/TCFAP2C in mouse embryonic germ cell maintenance. *Biology of Reproduction*, 82(1), 214–223. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.109.078717>

Witchel, S. F. (2018). Disorders of sex development. *Best Practice & Research. Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 48, 90–102. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2017.11.005>

Xie, Y., Wu, C., Li, Z., Wu, Z., y Hong, L. (2022). Early gonadal development and sex determination in mammal. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(14), 7500. <https://doi.org/10.3390/ijms23147500>