

DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL
Universidad Politécnica de Valencia

**Búsqueda de indicios de un gen mayor para
prolificidad en cuatro razas ovinas y una raza
caprina presentes en España**

Alumno:
Rubén Alejandro Muñoz Flores

Director:
Juan José Jurado García

Valencia, 2011

AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer muy sinceramente a mi tutor, Juan José Jurado García, por haberme dado la oportunidad de trabajar con él la tesis de master, por su disponibilidad a ayudarme en cada momento y sus enseñanzas que me permitieron dar los primeros pasos en programación Fortran.

A las distintas asociaciones y personas que participaron en el presente estudio, facilitando los datos y entregando información relevante para llevarlo a cabo.

A mis amigos del departamento de mejora genética del INIA, por su grata compañía, hospitalidad y simpatía, en especial a María Jesús Carabaño, Malena Serrano, Clara Díaz, Natalia Moreno, Cristina Meneses, Daniel Martín, y Sofiene Karoui.

Agradecer de forma muy especial a Carmen González, por su apoyo en cada momento, compañía y su valioso aporte a este trabajo.

A Beatriz Villanueva y Luis Alberto García por su ayuda en el curso de Fortran, muchas gracias.

En general a todas las personas del departamento de mejora genética del INIA, por su hospitalidad y por los gratos momentos compartidos.

Quisiera agradecer también al equipo organizativo del Máster en Mejora Genética Animal y Biotecnología de la Reproducción y a las distintas organizaciones participantes.

Por último, a mi familia, por el apoyo incondicional que me han brindado. A ellos va dedicado este trabajo fin de máster.

RESUMEN

La prolificidad es un carácter reproductivo muy importante en la producción ovina. Actualmente, se han identificado ocho mutaciones responsables del incremento de la prolificidad en ovinos: seis en *BMP15*, una en *BMPR-1B* y otra en *GDF9*. El uso de éstas u otras posibles mutaciones, puede ser una importante herramienta para incrementar el progreso genético del carácter. Se ha observado que la presencia de estas mutaciones en una población provoca cambios fenotípicos detectables como alteraciones en la normalidad de la distribución o heterogeneidad de la varianza intrafamiliar, entre otras características. En este trabajo se muestran indicios de la posible existencia de un gen mayor afectando la prolificidad de pequeños rumiantes. Se analizaron las características fenotípicas de cuatro razas ovinas y una raza caprina presentes en España. Se encontraron siete machos candidatos ovinos, posibles portadores de un gen mayor: cinco en la raza Manchega y dos en la raza Navarra. En la raza caprina Murciano-granadina se observó un grupo de machos que, analizados en su conjunto, sugieren la presencia de un gen mayor. Los resultados encontrados corresponden a una primera aproximación para la detección de genes mayores que pudieran estar afectando la prolificidad de las razas analizadas, ya sea de las mutaciones actualmente conocidas o de nuevas mutaciones en los mismos u otros genes.

ABSTRACT

The prolificacy is a very important trait in the sheep production. Currently, we have identified eight mutations responsible for increased prolificacy in sheep: six on *BMP15*, one in *BMPR-1B* and other one in *GDF9*. The use of these or other possible mutations can be an important tool to increase the genetic progress of the trait. It has been observed that the presence of these mutations in a population, leads phenotypic changes detectable as alterations in the normality of distribution or heterogeneity of variance, among other features. This work shows signs of the possible existence of a major gene affecting the prolificacy of small ruminants. We analyze the phenotypic characteristics of four breeds of sheep and one breed of goat present in Spain. There were seven rams candidates, putative carriers of a major gene: five in the Manchega breed and two in Navarra breed. The Murciano-Granadina goat breed showed a group of males, analyzed as a whole, suggest the presence of a major gene. This results are a first approach for the detection genes that may be affecting the prolificacy of the breeds analyzed, either currently known mutations or new mutations in the same or other genes.

Índice	Página
1.- INTRODUCCIÓN	1
1.1.- Mutaciones y mecanismos de acción de los genes mayores identificados.....	7
1.2.- Características fenotípicas de los genes mayores.....	11
1.3.- Impacto económico de la utilización de genes mayores en rebaños comerciales.....	12
1.4.- Objetivo del estudio.....	13
2.- MATERIAL Y MÉTODOS	15
2.1.- Primer paso: Valoración genética para prolificidad.....	18
2.2.- Segundo paso: Análisis de la distribución de frecuencias de la prolificidad de las hijas.....	20
2.3.- Tercer paso: Análisis de parientes.....	20
2.4.- Cuarto paso: Cálculo de la correlación intraclase.....	21
2.5.- Quinto paso: Análisis estadístico.....	22
2.6.- Ejemplo de la aplicación del protocolo.....	23
2.6.1.- Valoración genética.....	24
2.6.2.- Distribución de frecuencias de la prolificidad de las hijas...	24
2.6.3.- Análisis de parientes.....	24
2.6.4.- Correlación intraclase y análisis estadístico.....	29
3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
3.1.- Poblaciones ovinas.....	33
3.1.1.- Raza Rasa-aragonesa.....	35
3.1.2.- Raza Assaf.....	35
3.1.3.- Raza Manchega.....	35
3.1.4.- Raza Navarra.....	45
3.2.- Población Murciano-granadina.....	48
4.- CONCLUSIONES	51
5.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55
ANEXO	65

1.- INTRODUCCIÓN

Tabla 1.1.	Genes mayores conocidos/posibles genes mayores que afectan la tasa de ovulación y prolificidad en ganado ovino.....	5
Tabla 1.2.	Tipo de mutación en los genes mayores identificados.....	10

2.- MATERIAL Y MÉTODOS

Tabla 2.1.	Datos descriptivos de las poblaciones estudiadas.....	17
Tabla 2.2.	Niveles de los efectos fijos utilizados en la valoración genética.....	19
Tabla 2.3.	Catálogo de los machos del ejemplo.....	24
Tabla 2.4.	Resultados estadísticos y coeficientes de correlación intraclase de los machos del ejemplo.....	29

3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 3.1.	Estadísticos descriptivos por razas.....	33
Tabla 3.2.	Componentes de varianza y parámetros genéticos para el tamaño de camada en las poblaciones analizadas.....	34
Tabla 3.3.	Machos seleccionados como candidatos en raza ovina Manchega.....	36
Tabla 3.4.	Machos seleccionados como candidatos en raza ovina Navarra.....	45
Tabla 3.5.	Resultados estadísticos y coeficientes de correlación intraclase en los grupos “Normales” y “Prolíficos” en raza caprina Murciano-granadina.....	49

ANEXO

Tabla 3.6.	Identificación e información de los machos pertenecientes a los grupos formados en función de su prolificidad en raza Murciano-granadina.....	71
------------	---	-----------

1.- INTRODUCCIÓN

Figura 1.1.	Representación esquemática de los efectos de una mutación en un gen de la fecundidad (<i>Fec</i>) sobre la foliculogénesis y tasa de ovulación en ovinos.....	10
-------------	---	----

2.- MATERIAL Y MÉTODOS

Figura 2.1.	Ejemplo del catálogo de sementales.....	20
Figura 2.2.	Estructura básica del diagrama familiar.....	21
Figura 2.3.	Distribución de frecuencias de la prolificidad de todas las ovejas de la población Rasa-aragonesa y de los machos MACH4455, MACH0200, MACH0227 y MACH0611.....	25
Figura 2.4.	Información familiar del macho MACH4455 del ejemplo.....	26
Figura 2.5.	Información familiar del macho MACH0200 del ejemplo.....	27
Figura 2.6.	Información familiar del macho MACH0227 del ejemplo.....	28
Figura 2.7.	Información familiar del macho MACH0611 del ejemplo.....	28

3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Figura 3.2.	Distribución de frecuencias de la prolificidad de las hijas del macho MACH701 en raza Manchega.....	37
Figura 3.3.	Información familiar del macho MACH701 en raza Manchega.....	37
Figura 3.4.	Distribución de frecuencias de la prolificidad de las hijas del macho MACH702 en raza Manchega.....	38
Figura 3.5.	Información familiar del macho MACH702 en raza Manchega.....	38
Figura 3.6.	Distribución de frecuencias de la prolificidad de las hijas del macho MACH703 en raza Manchega.....	40
Figura 3.7.	Información familiar del macho MACH703 en raza Manchega.....	40
Figura 3.8.	Distribución de frecuencias de la prolificidad de las hijas del macho MACH704 en raza Manchega.....	41
Figura 3.9.	Información familiar del macho MACH704 en raza Manchega.....	41
Figura 3.10.	Distribución de frecuencias de la prolificidad de las hijas del macho MACH705 en raza Manchega.....	42
Figura 3.11.	Información familiar del macho MACH705 en raza Manchega.....	43
Figura 3.12.	Distribución de frecuencias de la prolificidad de las hijas del macho MACH101 en raza Navarra.....	46

Figura 3.13.	Información familiar del macho MACH101 en raza Navarra.....	46
Figura 3.14.	Distribución de frecuencias de la prolificidad de las hijas del macho MACH125 en raza Navarra.....	47
Figura 3.15.	Información familiar del macho MACH125 en raza Navarra.....	47
Figura 3.16.	Distribución de frecuencias de la prolificidad media de machos prolíficos y normales en raza caprina Murciano-granadina.	49

ANEXO

Figura 3.1.1	Distribución de frecuencias de la prolificidad en las poblaciones estudiadas. (a) Rasa-aragonesa; (b) Navarra; (c) Manchega; (d) Assaf.....	67
Figura 3.1.2	Distribución de frecuencias de la prolificidad en las poblaciones estudiadas. (e) Murciano-granadina.....	69

1.- INTRODUCCIÓN

El tamaño de camada o prolificidad es un componente importante en la producción del ganado ovino (Bradford, 1985). Sin embargo, por ser un carácter poligénico (Jurado y Serrano, 1995) y tener una baja heredabilidad (Gutiérrez, 2010) el progreso genético que se alcanza por métodos tradicionales de selección, es lento, y varía entre 1 a 3% de la media por año (Smith, 1985). No obstante, la identificación y uso de genes mayores puede ser una importante herramienta para incrementar el progreso genético de este carácter (Smith, 1985).

La prolificidad en ovino ha sido objeto de muchas investigaciones relativas a la detección e identificación de genes mayores en poblaciones comerciales, fruto de lo cual, hoy en día se conocen distintos genes mayores relacionados con el aumento de la prolificidad (Tabla 1.1). Sin embargo, solamente tres corresponden a genes localizados con mutaciones causales identificadas (Bodin, 2006).

La primera vez que se sugirió la presencia de un gen mayor fue en 1982 por Piper y Bindon, quienes mencionaron que la excepcional prolificidad observada en un pequeño rebaño de Merino Booroola podría resultar en parte de la acción de un gen mayor o un grupo de genes ligados que afectaban la tasa de ovulación. Casi veinte años después, la evidencia molecular corroboró dicha hipótesis; se había identificado la mutación responsable de los record en tamaño de camada y tasa de ovulación observados en los años precedentes. Se trataba de una mutación en el gen “bone morphogenetic protein 1B receptor” (*BMPR-1B*) ubicado en el cromosoma 6 y que provoca la sustitución del aminoácido glutamina por arginina (Mulsant et al., 2001; Souza et al., 2001; Wilson et al., 2001). Esta mutación se denomina *FecB^B* y es comúnmente llamada “gen Booroola”. Su efecto fenotípico es de alrededor de 1,5 ovocitos extra y 1 cordero más por parto cuando las ovejas presentan una sola copia del gen. En homocigosis produce 3,0 ovocitos extra, resultando 1,5 corderos adicionales por parto.

Si bien, el gen Booroola fue el primer gen mayor detectado, su mutación causal no fue la primera en ser identificada, ya que a partir de las observaciones iniciales de Piper y Bindon, muchos estudios trataron de descubrir genes mayores para prolificidad en otras razas prolíficas. Fue así como en 1991 se informó de la transmisión muy particular de la prolificidad en un rebaño de la raza Romney que sugería la presencia de un gen mayor. Observaron que los moruecos transmitían el gen a todas sus hijas pero a ninguno de sus hijos. Fue el primer indicio de un gen mayor ligado al cromosoma X (Davis et al., 1991). A mediados de la década de los noventa, el mismo patrón hereditario se observó en un rebaño Romney de McHanna en Waikato (Davis et al., 2001). Se trataba del mismo gen pero de mutaciones distintas. Ambas mutaciones se localizan en el gen “bone morphogenetic protein 15” (*BMP15*) de dicho cromosoma sexual. La primera de ellas, el alelo Inverdale (*FecX^I*), consiste en una sustitución de un único nucleótido en una secuencia codificante madura y fue identificada por Galloway y colaboradores en el año 2000. La otra, el alelo Hanna (*FecX^H*), corresponde a la sustitución de un nucleótido en un codón stop prematuro. Una copia del alelo Inverdale o del alelo Hanna incrementan el tamaño de camada alrededor de 0,6 corderos por

parto. Sin embargo, las ovejas homocigotas con alelos procedentes de ambos parentales tienen ovarios pequeños y poco desarrollados y son infértiles (Davis et al., 2001).

Otras cuatro mutaciones fueron identificadas posteriormente en el gen BMP15, todas ellas causando el mismo fenotipo que los alelos Inverdale y Hanna; incremento de la tasa de ovulación para ovejas en estado heterocigoto y esterilidad en homocigosis. Corresponden a los alelos, Galway ($FecX^G$) encontrado en la raza Cambridge; Belclare ($FecX^B$) en raza Belclare; Lacaune ($FecX^L$) en la raza Lacaune y ROA ($FecX^R$), encontrado en raza Rasa-aragonesa. Los dos primeros provocan un incremento en la tasa de ovulación de 0,7 y 1,0 respectivamente. No se ha determinado aún su efecto sobre el tamaño de camada. El alelo Lacaune incrementa la tasa de ovulación en 1,0 y tampoco se ha determinado su efecto sobre el tamaño de camada. (Hanrahan et al., 2004; Bodin et al., 2007). Por su parte, el efecto fenotípico del alelo ROA es de un aumento de 0,63 en tasa de ovulación y de 0,32 en el tamaño de camada (Martinez-Royo et al., 2008; Jurado et al., 2008).

Otro gen que afecta la tasa de ovulación y cuya mutación ha sido identificada es el gen "growth differentiation factor 9" ($GDF9$) y se encuentra situado en el cromosoma 5. Al igual que los cinco alelos del gen BMP15, este alelo, llamado High fertility ($FecG^H$), también provoca esterilidad funcional en ovejas homocigotas. Aunque no se conoce su efecto sobre el tamaño de camada, en estado heterocigoto el alelo aumenta en 1,4 la tasa de ovulación (Hanrahan et al., 2004).

Existe otro grupo de genes descritos que abarca desde genes localizados pero con mutaciones causales aún no identificadas, genes y mutaciones causales no identificadas y genes "putativos" sugeridos por observaciones de tamaños de camada extremos y transmisión particular de animales emparentados (Bodin, 2006). En la primera categoría de este grupo se encuentra el gen Lacaune. Este gen, distinto al descrito anteriormente, se encuentra localizado en el cromosoma 11, pero aún no se ha encontrado la mutación causal y solo se han identificado 10 marcadores próximos al locus. Su efecto es aditivo y una copia del gen aumenta la tasa de ovulación en 1,03 (Lecerf et al., 2002; Bodin et al., 2002).

Distinto es el caso del gen Woodlands, descubierto en 1999, y que se sabe está ligado al cromosoma X pero no se ha identificado ni el gen ni la mutación causal. A diferencia de los otros genes ubicados en este cromosoma, el gen Woodlands presenta imprinting materno, es decir, cuando una oveja hereda el gen de su padre, su efecto es silenciado y no hay incremento en el tamaño de camada. Además, los moruecos que heredan el gen de madres que lo expresan, tienen hijas que lo tienen silenciado. Por el contrario, los moruecos que heredan el gen de madres que no lo expresan, tienen hijas que sí expresan el gen (Davis et al., 2001).

Tabla 1.1. Genes mayores conocidos/posibles genes mayores que afectan la tasa de ovulación y prolificidad en ganado ovino (Adaptado de Davis 2005).

Gen	Nombre	Alelo	¹ Cr	Efecto sobre la tasa de ovulación (TO) y prolificidad (P)	Raza
<i>BMPR-1B</i>	Booroola	<i>FecB^B</i>	6	B+ : TO+1,5; P+1,0* BB : TO+3,0; P+1,5	Merino, Garole, Javanese, Huyang, Small Tailed Han, Cele, Duolang, Chinese Merino
<i>BMP15</i>	Inverdale	<i>FecX^I</i>	X	I+ : TO+1,0; P+0,6 II : Estéril (Ovarios hipoplásicos)	Romney
<i>BMP15</i>	Hanna	<i>FecX^H</i>	X	H+ : TO+1,0; P+0,6 HH : Estéril (Ovarios hipoplásicos)	Romney
<i>BMP15</i>	Belclare	<i>FecX^B</i>	X	B+ : TO+1,0 BB : Estéril (Ovarios hipoplásicos)	Belclare
<i>BMP15</i>	Galway	<i>FecX^G</i>	X	G+ : TO+0,7 GG : Estéril (Ovarios hipoplásicos)	Belclare, Cambridge y Small Tailed Han
<i>BMP15</i>	Lacaune	<i>FecX^L</i>	X	L+ : TO+1,5 LL : Estéril (Ovarios hipoplásicos)	Lacaune
<i>BMP15</i>	ROA	<i>FecX^R</i>	X	R+ : TO+0,63; P+0,32 RR : Estéril (Ovarios hipoplásicos)	Rasa-Aragonesa
<i>GDF9</i>	High Fertility	<i>FecG^H</i>	5	H+ : TO+1,4 HH : Estéril (Ovarios hipoplásicos)	Belclare y Cambridge
?	Woodlans	<i>FecX2^W</i>	X	W+ : TO+0,4; P+0,25 WW : TO y P ≥ W+	Coopworth
?	Lacaune	<i>FecL^L</i>	11	L+ : TO+1,0 LL : TO+2,0	Lacaune
?	Thoka	<i>FecI^I</i>	?	I+ : TO+1,2; P+0,7 II : Evidencias de esterilidad	Icelandic
?	?	?	?	Supuestos heterocigotos: TO+1; P+0,6	Olkuska
?	?	?	?	Alta variabilidad en TO (1 – 8) y P (1-7), y alta repetibilidad de la TO (0,8).	Belle-Ile
?	Wishart	<i>FecW</i>	?	W+ : TO+(0,8 -1,0) WW : TO y P > W+	Romney

¹Cr: cromosoma

* Small Tailed Han: Prolificidad **B+**: +1,1; **BB**: +1,4

Existe evidencia de un gen mayor autosómico con efecto aditivo en el cruce de la oveja islandesa Thoka con la raza Cheviots. La localización cromosómica del gen es desconocida y se sabe que no tiene relación con el gen Booroola ni con la mutación Inverdale ligada al cromosoma X. El alelo es denominado *Fec^l*, comúnmente llamado “gen Thoka” y su efecto fenotípico sobre el tamaño de camada es de 0,70 corderos por parto (Rhind et al., 2000; Davis, 2004).

En el año 2005 se informó de otro gen distinto a los descritos hasta entonces. Se trata del gen Wishart, cuya evidencia indica que se trataría de un gen autosómico y que una copia de éste, aumenta la tasa de ovulación entre 0,8 a 1,0 ovocitos (Davis et al., 2005).

Otros dos fenotipos se han descrito haciendo referencia a la presencia de supuestos genes mayores. Para ellos, la información que se tiene no permite asegurar su verdadera existencia como genes mayores, aunque sea muy probable (Bodin, 2006). Se trata de los genes “putativos” Olkuska y Belle-Ile. El primero fue propuesto por Martyniuk y Radomska en el año 1991 y nació de las observaciones de la prolificidad de la raza polaca Olkuska. El efecto de una copia del gen se estimó en alrededor de 1,0 ovocito extra por ovulación. Se sabe que este gen no corresponde a la mutación Booroola ni a Inverdale (Davis et al., 2002). Por otro lado, el gen Belle-Ile fue descrito en 1998 por Malher y Le Chère en un rebaño de ovejas del mismo nombre. Observaron altas tasas de ovulación y tamaños de camada que, unidos a la evidencia de la herencia mendeliana, les permitió hipotetizar que en esta raza estaba segregando un gen mayor autosómico para prolificidad. Observaron además que en esta raza, la tasa de ovulación estaba influenciada, entre otros factores, por el color de la lana de las ovejas (blanco versus negro) determinando que el color blanco aparentemente disminuye la tasa de ovulación en 0,45 en relación a las ovejas negras. Sin embargo, tanto la raza Belle-Ile como Olkuska se encuentran en peligro de extinción y, por tanto, el estudio de estos genes está muy limitado (Davis, 2004).

La gran cantidad de fenotipos descritos con mayor tasa de ovulación y prolificidad en ganado ovino, ha sido producto del gran interés que existe por este carácter, tanto desde el punto de vista productivo como desde el punto de vista científico, en este último, por su contribución al conocimiento de los factores que influyen en la regulación de la tasa de ovulación. Desde el punto de vista productivo, los principales motivos son: la prolificidad es uno de los objetivos prioritarios para los ovinos de carne incluso en ambientes difíciles; la heredabilidad de la prolificidad es muy baja y los progresos genéticos muy lentos y difíciles de adquirir en el caso de una herencia totalmente poligénica; el tamaño de camada es un carácter muy fácil de medir y de registrar y las observaciones de valores extremos son llamativas (Bodin, 2006). Por ello, los genes mayores conocidos hasta ahora, se han utilizado de varias formas para aumentar la productividad en los rebaños comerciales, usando continuamente los animales portadores, para aumentar la frecuencia del gen en los rebaños (Fahmy, 1998).

1.1.- Mutaciones y mecanismos de acción de los genes mayores identificados

Hoy en día el proceso general de la foliculogénesis en mamíferos se comprende razonablemente bien, sin embargo, los mecanismos subyacentes que controlan el número de folículos destinados a ovular, es decir, la tasa de ovulación, no se conocen totalmente (Fabre et al., 2006). Tanto las mutaciones del gen *BMP15*, como las de los genes *BMPR-1B* y *GDF9*, se asocian a un aumento de la tasa de ovulación sin un cambio importante en la secreción de gonadotropinas (Baird y Campbell, 1998). Curiosamente estos tres genes se encuentran involucrados en la misma vía metabólica del control de la ovulación. El gen *BMP15* codifica para la proteína morfogenética ósea 15 y el *GDF9* para el factor de crecimiento y diferenciación 9. Ambos pertenecen a la superfamilia de los “transforming growth factor” (TGF β) y el gen *BMPR-1B*, codifica para un receptor del TGF β (Bodin, 2006).

Las mutaciones Hanna, Galway y ROA del gen *BMP15* provocan un codón stop anticipado lo que se traduce en una pérdida de la actividad biológica de la proteína. Hanna corresponde a un cambio de citosina por timina en la posición 871 de la secuencia codificante del gen, mientras que Galway provoca un cambio de citosina por timina en la posición 718. Distinta es la mutación del alelo ROA, que consiste en una delección de 17 pares de bases en la secuencia de inicio del exón 2. Por otro lado las mutaciones Inverdale, Belclare y Lacaune provocan cambios no conservativos en los aminoácidos de la proteína. Inverdale corresponde a un cambio de timina por adenina en la posición 896 del ADNc. Belclare es un cambio de guanina por timina en el nucleótido 1100 y Lacaune un cambio de guanina por adenina en la posición 1196 del ADNc (Tabla 1.2).

En ovejas homocigotas, todas las mutaciones del gen *BMP15*, excepto la mutación ROA, producen un fenotipo similar a nivel del ovario, caracterizado por folículos bloqueados en los estados primarios de la foliculogénesis (Martínez-Royo et al., 2008; Fabre et al., 2006). No obstante, todas hacen que la proteína pierda su funcionalidad. El mecanismo molecular preciso por el cual estas mutaciones perjudican la actividad de BMP15 no está del todo claro. Se piensa que puede afectar tanto la formación de homodímeros BMP15 como la eficiencia de procesamiento y secreción de éstos, o su heterodimerización con GDF9. Para comprender como influyen estas mutaciones sobre la tasa de ovulación, es necesario saber cuales son las consecuencias funcionales de éstas sobre la actividad biológica normal de las proteínas producidas por los genes involucrados (Fabre et al., 2006).

En ratas, se ha visto que la proteína morfogenética ósea recombinante (BMP15), aumenta la proliferación de las células de la granulosa (Otsuka et al., 2000; McNatty et al., 2005), lo que también se ha visto en la especie humana (Di Pasquale et al., 2004). Además, en las células de la granulosa, BMP15 es un potente estimulador del ARNm que codifica para el Kit ligando, un factor necesario para el crecimiento de los ovocitos en los folículos pre-antrales. De este modo, BMP15 y Kit ligando juegan un rol importante en el crecimiento folicular temprano (Otsuka y Shimasaki, 2002). Por otra parte, BMP15 es capaz

de modular la esteroideogénesis de las células de la granulosa (Otsuka et al., 2000), y en ovejas además, incrementa la tasa de proliferación y suprime la secreción de progesterona basal y la inducida por la hormona Folículo Estimulante (FSH) en células de la granulosa desde pequeños folículos antrales (McNatty et al., 2003).

El alelo High Fertility en el gen *GDF9* es un cambio de citosina por timina en la posición 1184 del ADNc lo que provoca una sustitución de serina por fenilalanina en la posición 77 del péptido maduro (Tabla 1.2). Si bien las ovejas homocigotas para este alelo presentan el mismo fenotipo de infertilidad que las homocigotas en los alelos *FecX*, el fenotipo del ovario es distinto debido a que los folículos no son bloqueados en la primera etapa del desarrollo sino que llegan a un anormal estadio antral temprano tipo 5 (Hanrahan et al., 2004; McNatty et al., 2005).

Al igual que BMP15, el factor de crecimiento GDF9, es un potente estimulador de la proliferación de las células de la granulosa en ratas (McNatty et al., 2005; Vitt et al., 2000). Sin embargo, en roedores, algunos efectos sobre las células de la granulosa son diferentes a los provocados por BMP15, probablemente debido al uso de distintas vías de señalización (Fabre et al 2006). En primer lugar, GDF9 ha demostrado inhibir la expresión del Kit ligando (Elvin et al., 1999; Joyce et al., 2000). En segundo lugar, inhibe tanto la progesterona inducida por FSH como la producción de estradiol (Vitt et al., 2000) y al mismo tiempo aumenta la secreción de progesterona basal asociada con una alta regulación del gen “Steroidogenic Acute Regulatory” (*StAR*) (Elvin et al., 1999). Por otra parte, GDF9 disminuye la síntesis de ARNm para el receptor de hormona Luteinizante (LH) y también ejerce efectos específicos sobre las células del cúmulo, ya que induce la expansión de éste y mejora la expresión de la “Hyaluronan synthase 2” (HAS2) y la “cyclooxygenase 2” (COX-2) (Elvin et al., 1999). Además, GDF9 es capaz de estimular en la rata la biosíntesis de andrógenos por las células de la teca (Solovyeva et al., 2000). Incluso, sin utilizar las mismas vías de señalización, los factores BMP15 y GDF9 co-actúan en mejorar la proliferación de las células de la granulosa, incrementan la producción de inhibina y suprimen la secreción de progesterona (McNatty et al., 2005).

Por último, la mutación Booroola, del gen *BMPR-1B*, corresponde a un simple cambio aminoacídico en la secuencia que codifica para el receptor tipo 1B de la proteína morfogenética ósea, también conocida como “Activin-like kinase receptor-6” (ALK-6). El cambio de guanina por adenina en la posición 746 del ADNc induce un cambio no-conservativo de una Glutamina por una Arginina en la posición 249 de la proteína (Tabla 1.2). Para esta mutación también se ha esgrimido la hipótesis de pérdida parcial de funcionalidad del receptor (Mulsant et al., 2001; Fabre et al., 2003). De hecho se ha visto que al utilizar BMP luciferasa específica transfectada en células HEK-293, la presencia de esta mutación está asociada con una pérdida de respuesta en el “Bone morphogenetic protein 4” (BMP4) (Fabre et al., 2003). La pérdida en la actividad del receptor también es ilustrada por el hecho de que las células de la granulosa de ovejas homocigotas son menos sensibles que las no portadoras a

la acción de BMP4 sobre la proliferación y inhibición de la producción de progesterona (Mulsant et al., 2001; Fabre et al., 2003).

Todo parece indicar que una disminución en la actividad del sistema BMP conduce a un aumento en la tasa de ovulación. Sobre este concepto y el papel conocido de las moléculas BMP durante la foliculogénesis, se ha propuesto un mecanismo para explicar el aumento de la tasa de ovulación asociado a la pérdida de función del sistema BMP (Figura 1.1). En primer lugar, las mutaciones en los genes de la fecundidad (*Fec*) probablemente perjudican la acción proliferativa de los BMPs desde los primeros estadios de la foliculogénesis en adelante. La consecuencia final, es la presencia de folículos con un menor número de células de la granulosa en los ovarios de las ovejas portadoras de las mutaciones (Montgomery et al., 1992; Montgomery et al., 2001). En segundo lugar, como consecuencia de la pérdida de función de BMP, se incrementa la sensibilidad a la FSH (Shackell et al., 1993; McNatty et al., 1986) y se produce un aumento en la expresión de marcadores de diferenciación FSH-dependientes, tales como los genes de enzimas esteroideogénicas, subunidades de activina/inhibina y receptores de LH en células de la granulosa de folículos antrales (Montgomery et al., 1992). En consecuencia, estos marcadores de diferenciación celular de la granulosa, aparecen en folículos de menor tamaño en animales portadores de las mutaciones *Fec* comparado con los no portadores. El incremento de la sensibilidad a las gonadotropinas de estos folículos, promueve su selección y mantención cuando las concentraciones de FSH circulantes están disminuidas durante la fase folicular. En los portadores de mutaciones *Fec*, cada uno de los folículos seleccionados contiene un reducido número de células de la granulosa y producen menor cantidad de estradiol e inhibina, no obstante en conjunto, estos folículos producen la misma cantidad que los folículos de animales no portadores (Shackell et al., 1993; Baird y Campbell, 1998; Montgomery et al., 1992). Es probable que la retroalimentación positiva que produce el estradiol sobre la secreción de GnRH se activa con el mismo umbral de estradiol en ovejas portadoras como en las no portadoras de alguna de las mutaciones.

Tabla 1.2. Tipo de mutación en los genes mayores identificados

Gen (Cr) ¹	Nombre	Alelo	Tipo de mutación ¹	Resultado de la mutación	Referencia
<i>BMPR-1B</i> (6)	Booroola	<i>FecB^B</i>	1: G por A	Cambio de Glutamina por Arginina	Mulsant et al, 2001; Souza et al, 2001; Wilson et al, 2001
<i>BMP15</i> (X)	Inverdale	<i>FecX^I</i>	1: T por A	Cambio de Valina por Ácido aspártico	Galloway et al, 2000
	Hanna	<i>FecX^H</i>	1: C por T	Codón stop	Galloway et al, 2000
	Galway	<i>FecX^G</i>	1: C por T	Codón stop	Hanrahan et al, 2004
	Belclare	<i>FecX^B</i>	1: G por T	Cambio de Serina por Isoleucina	Hanrahan et al, 2004
	Lacaune	<i>FecX^L</i>	1: G por A	Cambio de Cisteína por Tirosina	Bodin et al, 2007
	ROA	<i>FecX^R</i>	2: 17 pares de bases	Codón stop	Martinez-Royo et al 2008
<i>CDF9</i> (5)	Hig fertility	<i>FecG^H</i>	1: C por T	Cambio de Serina por Fenilalanina	Hanrahan et al, 2004

¹ Cr: Cromosoma; 1: Cambio nucleotídico; 2: Delección; A: Adenina; C: Citosina; T: Timina; G: Guanina

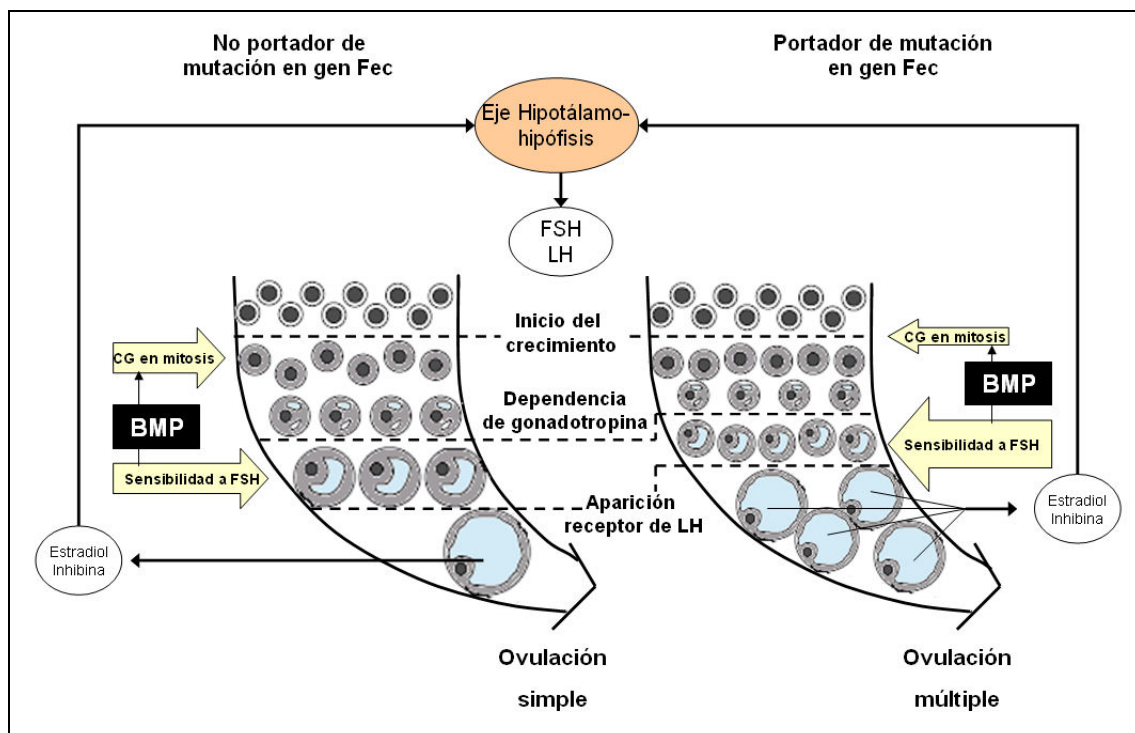


Figura 1.1. Representación esquemática de los efectos de una mutación en un gen de la fecundidad (*Fec*) sobre la foliculogénesis y tasa de ovulación en ovinos (Extraído de Fabre et al. 2006).

1.2.- Características fenotípicas de los genes mayores

Un gen mayor es aquel que produce una diferencia entre homocigotos de al menos 0,5 desviaciones típicas, lo que supone un incremento de la tasa de ovulación, incluidos genes con una sola copia, de más de 0,2 (Davis, 2004). Muchos loci que afectan a caracteres cuantitativos se han identificado de forma fortuita, al descubrirse por casualidad alelos cuyos efectos sobre un carácter son lo suficientemente grandes como para poder reconocerse en su segregación individual (Falconer y Mackay, 1996).

Existen varias características que sugieren la presencia de un gen mayor en una población, que estarán más o menos acentuadas, en función de la frecuencia con que se encuentra y la magnitud del efecto que éste tenga sobre el carácter. Algunas de estas características son:

- ***Distribución multimodal.***

Si un gen tiene un efecto lo suficientemente grande habrá un cambio detectable en la normalidad de su distribución (Le Roy y Elsen 1992; Cemal, 1996; Falconer y Mackay, 1996). Smith (1985), señala que para obtener bimodalidad en la distribución, es necesario que las medias de los individuos difieran en al menos dos desviaciones estándar.

- ***Heterogeneidad de varianzas.***

Si existe un gen mayor en una población, este causará heterogeneidad de la varianza intrafamiliar, porque segregará en unas familias y en otras no (Le Roy y Elsen, 1992; Falconer y Mackay, 1996).

- ***Desviación de la normalidad.***

Si un gen mayor no tiene un efecto lo suficientemente grande como para causar una distribución multimodal, puede sin embargo, causar una desviación detectable de la normalidad. Si la frecuencia del gen es intermedia la distribución será platicúrtica (más plana que la normal); si es extrema (próxima a 0 ó 1) la distribución será asimétrica y leptocúrtica (más apuntada que la normal) (Falconer y Mackay, 1996).

- ***Parámetros genéticos elevados.***

Bajo herencia poligénica, la heredabilidad y repetibilidad del tamaño de camada presentan valores bajos, no obstante, la presencia de un gen mayor puede aumentar estos parámetros genéticos (Smith, 1985) y, este aumento, puede ser el primer indicador de su presencia en la población (Le Roy y Elsen, 1990).

1.3.- Impacto económico de la utilización de genes mayores en rebaños comerciales

El tamaño de camada es un factor importante de la eficiencia reproductiva total en el ganado ovino, que a su vez, tiene un gran impacto en la rentabilidad de las ganaderías ovinas. Una mejora en la eficiencia reproductiva conduce a más corderos para la venta, con el potencial de generar mayores beneficios económicos (Swan, 2009). A medida que se detectaban e identificaban los distintos genes relacionados con el aumento de la prolificidad, varios estudios analizaron, desde el punto de vista económico, su utilización e incorporación en rebaños comerciales.

En 1991 Davis et al., (1991) presentaron un estudio en que se había comparado el resultado de distintos cruces de ovinos Booroola con diferentes razas ovinas de Europa, Oceanía y África. Las ovejas portadoras de la mutación mostraron una alta productividad en relación al peso total de corderos producidos por oveja. Sin embargo, la productividad fue inferior a las expectativas para la tasa reproductiva debido a la alta mortalidad de los corderos y el bajo peso de los corderos al destete. Es importante destacar que los corderos nacidos en camadas tienen una menor supervivencia que aquellos que nacen solos, debido a los efectos de dificultad de parto, bajo peso al nacimiento, pobre comportamiento maternal y mayor susceptibilidad a enfermedades (Swan, 2009). Este nocivo efecto secundario de la mayor prolificidad, puede atenuarse si la mutación se introduce en razas de buena aptitud maternal (Davis y Hinch, 1985).

Otro estudio realizado en Nueva Zelanda por Amer et al. (1999) cuantificó el efecto económico de introducir animales portadores de los alelos Booroola e Inverdale en distintos rebaños. Bajo las condiciones de ese país, los resultados económicos obtenidos fueron muy variables debido principalmente a la diferencia entre rebaños. La introducción de una copia de la mutación Booroola incrementaba la rentabilidad desde 5,24\$ a 16,23\$ por cada parto de una oveja y de 4,69\$ a 12,53\$ en el caso del alelo Inverdale. El valor adicional producto de la incorporación de una segunda copia de éste alelo, resultó ser muy pequeño o negativo (-0,76\$ a 2,29\$). La variabilidad de los valores económicos la atribuyeron a tres factores: el nivel de prolificidad por rebaño, las relativas tasas de supervivencia de los corderos nacidos y la muerte de los corderos a una edad o peso determinados.

También se han realizado estudios para evaluar el aumento de la prolificidad en ganado ovino lechero. Gootwine (2009) hace un revisión de las consecuencias biológicas y económicas de la introgresión de la mutación Booroola en las razas Awassi y Assaf. En ella se menciona que en ambas razas, las ovejas que sean portadoras de la mutación producen menos leche que aquellas que no la tienen. En consecuencia, el aumento de los ingresos por oveja, producto de la venta de corderos, es seguido de una disminución de éstos por la menor producción de leche. No obstante, dicha situación puede ser interesante en un escenario que establezca cuotas de producción lechera, en donde la producción de corderos es la única manera de aumentar los ingresos. En este sentido, la utilización de ovejas portadoras puede conducir a obtener

mayores ingresos, no solo debido a la mayor prolificidad de las ovejas, sino también porque el número de ovejas en el rebaño puede ser mayor, sin sobrepasar la cuota lechera establecida.

En la raza Rasa-aragonesa, Pardos et al. (2010) analizaron si la mejora de la prolificidad conseguida por la presencia del alelo ROA o por métodos tradicionales de selección se traducían en mejores resultados económicos por oveja y por unidad de trabajo (UTH). Compararon estadísticamente los resultados económicos de tres grupos de ovejas: un grupo que incluía más de 5% de ovejas con el alelo ROA, otro que participaba en el programa de selección tradicional (herencia poligénica) y otro grupo de ovejas que no estaban sometidas a selección. Los resultados mostraron que la mayor prolificidad conseguida en el grupo de ovejas ROA respecto de los otros, se traducían en un mayor número de corderos vendidos por oveja y año, vendiendo 0,34 y 0,55 corderos más que los grupos selección y no selección respectivamente. Los ingresos económicos por oveja del grupo ROA fueron significativamente superiores a los del grupo que no estaba sometido a selección, al igual que los resultados económicos por UTH. Concluyeron que en esa población, los mayores resultados reproductivos (obtenidos por selección tradicional o uso de un gen mayor) se traducían en mejores resultados económicos.

El impacto de la introducción de ovejas muy prolíficas en los rebaños comerciales sigue siendo una pregunta abierta y, parte de la respuesta, está relacionada con el nivel de manejo de las crías, tipo de explotación, precios del cordero y si el objetivo de producción es la leche, carne o lana (Souza et al 2004).

1.4.- Objetivo del estudio

El objetivo del presente estudio fue analizar las características fenotípicas de la prolificidad de cuatro razas ovinas (Rasa-aragonesa, Navarra, Manchega y Assaf) y una raza caprina (Murciano-granadina) con el fin de identificar machos que pudieran ser portadores de un gen mayor para prolificidad.

Este estudio corresponde a una primera aproximación para la detección e identificación de genes mayores que pudieran estar afectando la prolificidad de estas razas.

2.- MATERIAL Y MÉTODOS

El presente estudio se llevó a cabo en cuatro razas ovinas, y una raza caprina, presentes en España. Las razas ovinas fueron Rasa-aragonesa, Navarra, Manchega y Assaf. La raza de cabras fue la Murciano-granadina. Las dos primeras razas ovinas son explotadas para la producción de carne y, por ende, sus respectivos programas de mejora han apuntado explícitamente a mejorar la prolificidad. En este sentido, la población Rasa-aragonesa, en los últimos años ha mejorado de forma importante este carácter debido a la detección e identificación de una nueva mutación del gen *BMP15* que aumenta significativamente la prolificidad de las ovejas y que, por tanto, ha sido difundida en la población. Por otro lado, las razas Manchega, Assaf y Murciano-granadina, son razas de aptitud lechera donde el principal objetivo de selección ha sido el aumento de la producción de leche.

Para este estudio se han utilizado las bases de datos y registros genealógicos de los programas de mejora de las razas mencionadas. Éstos fueron proporcionados por las siguientes organizaciones:

- Raza Rasa-aragonesa **Cooperativa Carnes Oviaragón**
- Raza Navarra **Asociación Nacional de Criadores de Raza Navarra (ARANA)**
- Raza Manchega **Asociación Nacional de Criadores de Ganado Ovino Selecto de Raza Manchega (AGRAMA)**
- Raza Assaf **Asociación Nacional de Criadores de Ganado Ovino de Raza Assaf (ASSAFE)**
- Raza Murciano-granadina **Asociación Española de Criadores de la Cabra Murciano Granadina (ACRIMUR)**

Una vez recibida las bases de datos, se sometieron a una depuración en donde se eliminaron animales que presentaban incoherencias y que podrían conducir a errores en los posteriores análisis. La tabla 2.1 muestra datos descriptivos de las poblaciones después de aplicar la depuración.

Tabla 2.1. Datos descriptivos de las poblaciones estudiadas.

	¹ <i>Aragonesa</i>	<i>Navarra</i>	<i>Manchega</i>	<i>Assaf</i>	¹ <i>Murciana</i>
Nº partos registrados	996.106	1.287.348	813.793	281.154	170.751
Nº rebaños	202	2.988	3.546	151	4.056
Nº de ovejas	255.030	249.651	327.421	132.340	102.605
Nº de machos	140	207	2.153	1.704	963
Nº de ovejas con padres desconocidos	192.666	143.073	173.737	81.185	30.444
Nº de machos con padres desconocidos	15	28	229	1.058	24
Periodo de registro	1985-2010	1980-2011	1989-2010	*	1976-2008

¹*Aragonesa*: Rasa-aragonesa; *Murciana*: Murciano-granadina

* Sin registro de años

El trabajo consistió en identificar machos (moruecos) que presentaran características fenotípicas que nos instaran a pensar en la existencia de un gen mayor que estuviera afectando la prolificidad de sus hijas. Para ello, se desarrolló un protocolo que consideraba cinco pasos. Cada paso consistió en un análisis específico, algunos de los cuales han sido tomados de estudios relacionados con la búsqueda de genes mayores para prolificidad, como los de Bodin et al. (2002), Jurado y Calvo (2007) y Cano-Ortiz et al. (2009). Tras la aplicación del protocolo, los machos que cumplieron con la mayoría de los pasos se consideraron candidatos. En el presente estudio, un **macho candidato** es aquél cuyas características fenotípicas relacionadas con la prolificidad de sus hijas y de sus parientes, hacen pensar en la posibilidad de que sea portador de un gen mayor.

Cabe destacar que la raza Rasa-aragonesa fue analizada a efectos de detectar un posible gen mayor distinto del alelo *FecX^R*. Por ello, en los pasos del protocolo se ha considerado la presencia de dicho alelo para evitar analizar animales portadores.

Los pasos del protocolo se detallan a continuación en el orden en que fueron aplicados.

2.1.- Primer paso: Valoración genética para prolificidad

A partir de los datos depurados, se realizó una valoración genética para el carácter prolificidad mediante metodología BLUP usando el modelo animal con medidas repetidas. Para ello se utilizó el programa BLUP-AM de Jurado et al. (1991). Este programa utiliza el método iterativo de Gauss-Seidel para resolver el sistema de ecuaciones, y el muestreo de Gibbs para calcular la fiabilidad de la predicción genética de cada animal. La ecuación del modelo fue distinta en cada raza debido a la procedencia de los datos.

A continuación se describen las ecuaciones del modelo junto con los efectos considerados para cada una de las razas.

*	$Y_{ijklmnp} = \mu + RAE_i + Mc_j + Ip_k + NP_l + G_m + U_n + E_p + \mathcal{E}_{ijklmnp}$	Aragonesa
	$Y_{iqrpm} = \mu + RAE_i + Ed_q + Th_r + U_n + E_p + \mathcal{E}_{iqrpm}$	Navarra
	$Y_{ijktnp} = \mu + RAE_i + Mc_j + Ip_k + LE_t + U_n + E_p + \mathcal{E}_{ijktnp}$	Manchega
	$Y_{isknp} = \mu + RAE_i + NIac_s + Ip_k + U_n + E_p + \mathcal{E}_{isknp}$	Assaf
	$Y_{isnp} = \mu + RAE_i + NIac_s + U_n + E_p + \mathcal{E}_{isnp}$	Murciana

* Modelo utilizado para la detección de un posible gen mayor distinto del alelo *FecX^R*.

Donde:

Y es la prolificidad de la oveja n en el parto p
 μ es la media general de la población

RAE _i	es el efecto de la interacción rebaño-año-mes del parto
Mc _j	es el efecto del modo de cubrición
Ed _q	es la edad del animal al parto
Th _r	es el efecto del tratamiento hormonal
Ip _k	es el intervalo entre partos
Nlac _s	es el efecto del número de lactación
LE _t	es el efecto de la interacción lactación edad
NP _l	es el efecto del número de parto
G _m	es el efecto de la presencia/ausencia del alelo <i>FecX^R</i>
U _n	es el valor genético para prolificidad de la oveja <i>n</i>
E _p	es el efecto ambiental permanente de la medida <i>p</i> de la oveja <i>n</i>
ε	es el efecto residual

Los niveles de los efectos fijos se muestran en la tabla 2.2. Los parámetros genéticos, heredabilidad y repetibilidad, fueron estimados para cada una de las razas previo a la valoración genética utilizando los mismos modelos descritos. Para estimar los componentes de varianzas se utilizó el paquete estadístico VCE-6 de Groeneveld et al., (2008).

Tabla 2.2. Niveles de los efectos fijos utilizados en la valoración genética.

	¹ <i>Aragonesa</i>	<i>Navarra</i>	<i>Manchega</i>	<i>Assaf</i>	¹ <i>Murciana</i>
Efectos fijos					
RAE	9.616	4.515	5.219	5.275	1.229
LE	-	-	113	-	-
Mc	6 *	-	2 **	-	-
Ed	-	3	-	-	-
Th	-	2**	-	-	-
Ip	4	-	3	4	-
Nlac	-	-	-	6	8
NP	10	-	-	-	-
G	3	-	-	-	-

¹**Aragonesa:** Rasa-aragonesa; **Murciana:** Murciano-granadina

* Sincronización sin IA, sincronización IA, monta natural, retorno tras sincronización sin IA, retorno tras sincronización con IA y desconocido.

** Uso de hormonas y sin uso de hormonas.

Tras la valoración genética se elaboró un catálogo de sementales ordenados en función de su valor genético, el cual reunía, además de los correspondientes valores genéticos, la fiabilidad de dicha valoración, el número de hijas y los porcentajes relativos al tipo de parto de sus hijas. Un ejemplo del catálogo se muestra la figura 2.1.

Una vez construido el catálogo se buscaron machos que tuvieran valores llamativos en los porcentajes de partos de sus hijas. Los criterios fueron: que tuvieran una proporción similar de partos simples y dobles, mayor proporción de partos dobles o un porcentaje importante de partos triples. Se buscó en aquellos individuos mejor evaluados. Una vez identificados los animales que presentaban las características mencionadas se eligieron para continuar con el segundo paso, aquellos que tuvieran como mínimo 20 hijas. Adicionalmente, en el caso de la raza Rasa-aragonesa, debía ser un animal que no fuera portador del alelo *FecX^R* y que no estuviera emparentado directamente con algún portador.

Semental	VG	FIB	NH	PROLF	Tipo de Parto (%)				
					S	D	T	C	Q
MM9433	0,077	0,82	980	1,70	40,0	47,5	10,0	2,00	0,00
MM2909	0,066	0,36	16	1,49	56,0	38,0	4,00	0,00	0,00
MM0227	0,065	0,78	172	1,42	59,0	37,0	2,00	0,00	0,00

VG.- Valor genético del animal **FIB.-** Fiabilidad **NH.-** Número de hijas **PROL.-** Prolificidad
S.- Partos simples **D.-** Partos dobles **T.-** Partos triples **C.-** Partos cuádruples **Q.-** Partos Quíntuples

Figura 2.1. Ejemplo del catálogo de sementales

2.2.- Segundo paso: Análisis de la distribución de frecuencias de la prolificidad de las hijas

Para cada uno de los machos elegidos en el paso anterior, se buscaron todas las hijas que tuvieran tres o más partos registrados, se calculó la prolificidad de cada una de ellas y se construyó una gráfica de frecuencias de dicha prolificidad. El mismo procedimiento se aplicó a todas las ovejas de la población a fin de comparar la gráfica de cada macho con la de la población. Aquellos machos que presentaron una distribución claramente diferente a la de la población, como por ejemplo, una distribución bimodal, se eligieron para continuar siendo analizados. Este paso se consideró fundamental para seguir analizando un determinado macho, ya que, de existir un gen mayor, la variación continua de dicho carácter es afectada, y como consecuencia su distribución puede mostrar dos o más frecuencias máximas o bien, una desviación de la normalidad, en función del efecto del gen. Por esta razón, los machos elegidos en este nivel se consideraron **pre-candidatos** y se analizaron en todos los posteriores pasos del protocolo.

2.3.- Tercer paso: Análisis de parientes

Este paso consistió en observar si se presentaba la transmisión característica de los genes mayores de una generación a otra. Para ello se construyó un diagrama familiar con tres generaciones en cada pre-candidato, es decir, individuo, padres, abuelos y los respectivos descendientes en cada generación. En el caso de los parientes machos, solo se buscaron los hijos de éste y no sus hijas, ya que la prolificidad de éstas se observó, al igual que en el paso anterior, construyendo la gráfica de distribución de frecuencias. La estructura básica del diagrama familiar se muestra en la figura 2.2. En este, tanto la prolificidad del individuo analizado como la de sus parientes machos, corresponde a la prolificidad media de sus respectivas hijas. Construido el diagrama familiar, se observó el valor genético y la prolificidad de cada pariente considerando las formas de transmisión de los genes mayores que hasta la actualidad se conocen.

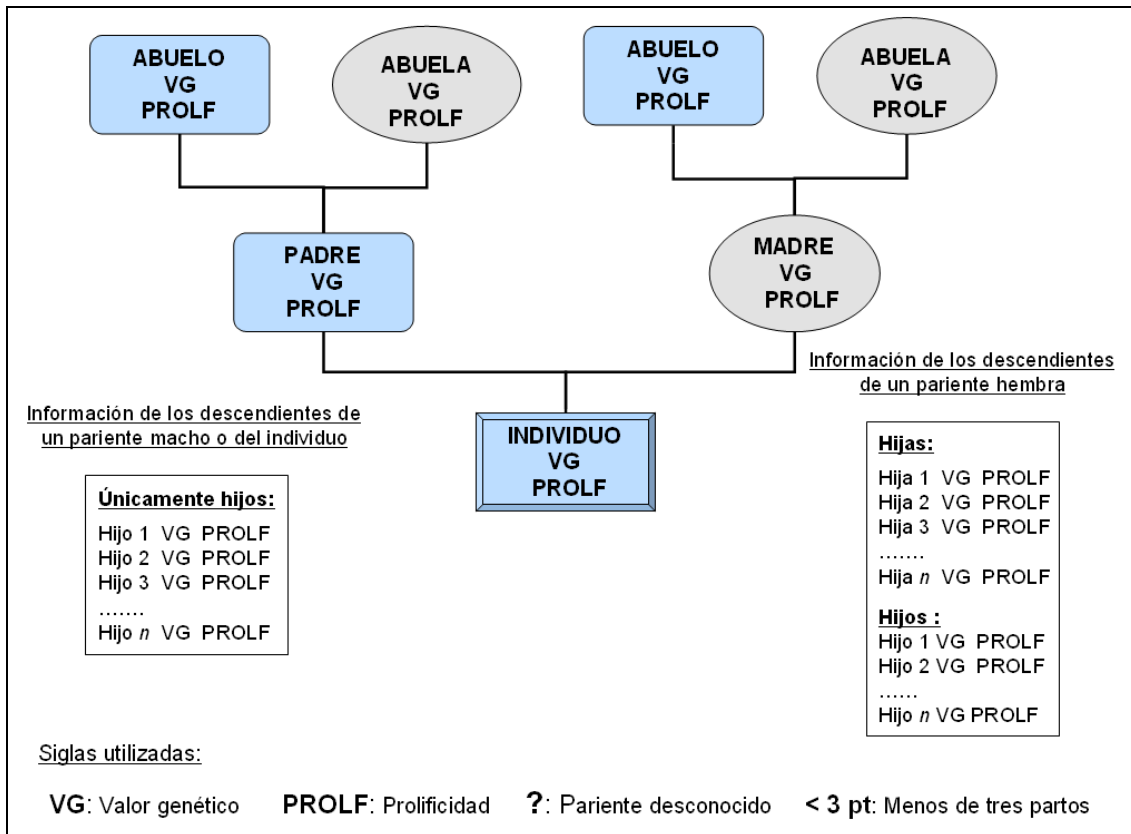


Figura 2.2. Estructura básica del diagrama familiar.

2.4.- Cuarto paso: Cálculo de la correlación intraclase

En este paso se analizó el grado de heterogeneidad de la varianza intrafamiliar de cada pre-candidato. Para ello se utilizó el coeficiente de correlación intraclase (r_i), el que se calculó para cada pre-candidato a partir de un análisis de varianza jerárquico simple considerando el siguiente modelo:

$$Y_{ij} = \mu + H_i + \epsilon_{ij}$$

Donde:

- Y_{ij} es el tamaño de camada del j -ésimo parto de la i -ésima hija
- μ es la media general del carácter
- H_i es la contribución aleatoria de la i -ésima hija
- ϵ_{ij} es el efecto residual

En este modelo, la varianza fenotípica se divide en dos componentes estructurales, uno atribuible a diferencias entre las hijas del macho (componente entre hijas σ^2_H) y el otro atribuible a los diferentes tamaños de camada de una misma hija (componente intraprogenie σ^2_ϵ). Estos componentes de varianza se calcularon a partir de las expresiones de los cuadrados medios esperados de cada fuente de variación (**C.M.esperado**). El

componente de la varianza intraprogenie σ^2_ϵ se estimó por su correspondiente cuadrado medio y la estima de la varianza entre hijas σ^2_H , de la expresión: **C.M esperado** = $\sigma^2_\epsilon + (n_0) * \sigma^2_H$. Los valores obtenidos son aproximados y, por tanto, se simbolizan por S^2_H y S^2_ϵ . El r_i se calcula como sigue:

$$r_i = \frac{S^2_H}{S^2_H + S^2_\epsilon}$$

* Tamaño medio de la muestra

$$n_0 = \frac{1}{a - 1} \left(\sum^a n_i - \frac{\sum^a n_i^2}{\sum^a n_i} \right)$$

Donde:

a : número de grupos (hijas)

n_i : tamaño de la muestra por grupo (Nº partos por hija)

(Sokal y Rohlf, 1969).

El r_i puede tomar valores entre 0 y 1. Cuanto más cercano a 1, significa que la mayor parte de la variación en la muestra es entre hijas, lo que podría ser atribuible a un gen mayor debido a que un macho transmitirá el alelo favorable a algunas de sus hijas y a otras no (en el caso de tratarse de un gen mayor autosómico) lo que generará una alta variabilidad entre hijas para la prolificidad (alta σ^2_H). Por el contrario, si se tratase de un gen mayor ligado al cromosoma X, tanto la variabilidad entre las hijas como la variabilidad en cada uno de sus partos serán bajas lo que también dará lugar a una alto r_i .

El r_i de cada pre-candidato se comparó con el r_i del resto de los machos de la población. Este último se calculó de forma similar al anterior pero considerando un modelo jerárquico doble, que incluye la nueva fuente de variación generada por los machos.

2.5.- Quinto paso: Análisis estadístico

A efectos de hacer una comparación estadística entre los pre-candidatos y el resto de los machos de la población, se realizó un análisis de varianzas y posterior test de comparación múltiple de Tukey. Para ello se formó un grupo, llamado arbitrariamente MNORMAL, que reunía a todas las hijas (con tres o más partos) de los restantes machos de la población y se comparó con los pre-candidatos. Se utilizó un modelo que consideraba como mínimo el macho y el rebaño como efectos fijos y otras fuentes de variación en función de la raza. Se fijó un nivel de significación del 1%. El modelo se muestra a continuación.

$$Y_{ijk} = \mu + M_i + R_j + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk}	es el k -ésimo tamaño de camada en el j -ésimo rebaño del i -ésimo macho.
μ	es la media general del carácter
M_i	es el efecto del i -ésimo macho
R_j	es el efecto del j -ésimo rebaño
ε_{ijk}	es el efecto residual

Adicionalmente, se construyó para la prolificidad, los intervalos de confianza al 99% a efectos de complementar los resultados del test de hipótesis.

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software Statistical Package for the Social Sciences 15.0 (SPSS).

2.6.- Ejemplo de la aplicación del protocolo

A continuación se muestra un ejemplo de la aplicación del protocolo sobre cuatro machos de la raza Rasa-aragonesa con el objeto de mostrar el grado de efectividad de la metodología empleada. Para ello se eligieron dos animales portadores (R+) del alelo $FecX^R$, los machos MACH4455^(R+) y MACH0200^(R+), y otros dos machos que no lo poseen (R-), los machos MACH0592^(R-) y MACH0611^(R-). En la valoración genética se utilizó el siguiente modelo, con el fin de no eliminar el efecto del mencionado alelo.

$$Y_{ijklmnp} = \mu + RAE_i + Mc_j + Ip_k + NP_l + U_n + E_p + \varepsilon_{ijklmnp}$$

Donde:

Y	es la prolificidad de la oveja n en el parto p
μ	es la media general de la población
RAE_i	es el efecto de la interacción rebaño-año-mes del parto
Mc_j	es el efecto del modo de cubrición
Ip_k	es el intervalo entre partos
NP_l	es el efecto del número de parto
U_n	es el valor genético para prolificidad de la oveja n
E_p	es el efecto ambiental permanente de la medida p de la oveja n
ε	es el efecto residual

Los niveles de cada efecto fijo corresponden a los mismos presentados anteriormente en la tabla 2.2. Obsérvese que en este caso el modelo NO corrige por el efecto del alelo $FecX^R$.

Para observar las diferencias entre los machos portadores y los no portadores, se aplicó la totalidad del protocolo a los cuatro individuos, a diferencia de lo que se hizo al realizar este estudio, donde tras el primer y segundo paso se continuaba con los posteriores solo en aquellos animales que reunieran las características mencionadas en los apartados 2.1 y 2.2 de esta sección.

2.6.1.- Valoración genética

Una vez realizada la valoración genética, los machos portadores fueron mejor valorados que los no portadores, no obstante todos los machos se ubicaron dentro de los 30 mejor evaluados. La tabla 2.3 muestra el catálogo que reúne la información de la valoración genética y prolificidad de cada macho tras la valoración genética. Si se observan con detalle los valores relativos al tipo de parto, los portadores tienen una mayor proporción de partos dobles respecto de los simples y también un porcentaje llamativo de partos triples. Por el contrario, los partos simples representan una mayor proporción en los machos no portadores.

Tabla 2.3. Catálogo de los machos del ejemplo

Semental	VG	FIB	NH	PROLF	Tipo de Parto (%)				
					S	D	T	C	Q
MACH4455 ^(R+)	0,5254	0,94	765	1,72	42,3	47,8	9,10	0,74	0,00
MACH0200 ^(R+)	0,3243	0,63	39	1,86	33,7	53,8	11,8	0,60	0,00
MACH0227 ^(R-)	0,1240	0,67	92	1,46	50,0	40,5	3,02	0,43	0,00
MACH0611 ^(R-)	0,0476	0,78	144	1,46	61,1	36,8	1,72	0,38	0,00

VG: Valor genético; **FIB:** Fiabilidad de la valoración genética; **NH:** Número de hijas; **PROLF:** Prolificidad; **S:** Simples; **D:** Dobles; **T:** Triples; **C:** Cuádruples; **Q:** Quíntuples

2.6.2.- Distribución de frecuencias de la prolificidad de las hijas

Las distribuciones de frecuencias de los machos portadores fueron muy diferentes a la de la población y a las de los machos no portadores. El macho MACH4455^(R+) presentó una distribución que muestra dos picos (en 1,4 y 2,0) con frecuencias similares y el macho MACH0200^(R+), una distribución con una frecuencia máxima en 2,2 y asimetría evidente. Por el contrario, los machos no portadores mostraron una distribución similar a la de la población, ambos con una frecuencia máxima en 1,4. La figura 2.3 muestra las distribuciones de cada macho y la de la población.

2.6.3.- Análisis de parientes

El análisis de los parientes agrega nueva información. En el caso del portador MACH4455^(R+) solo se conoce su madre y un hermano. Sin embargo, su hermano tiene un valor genético negativo y una prolificidad normal (1,44).

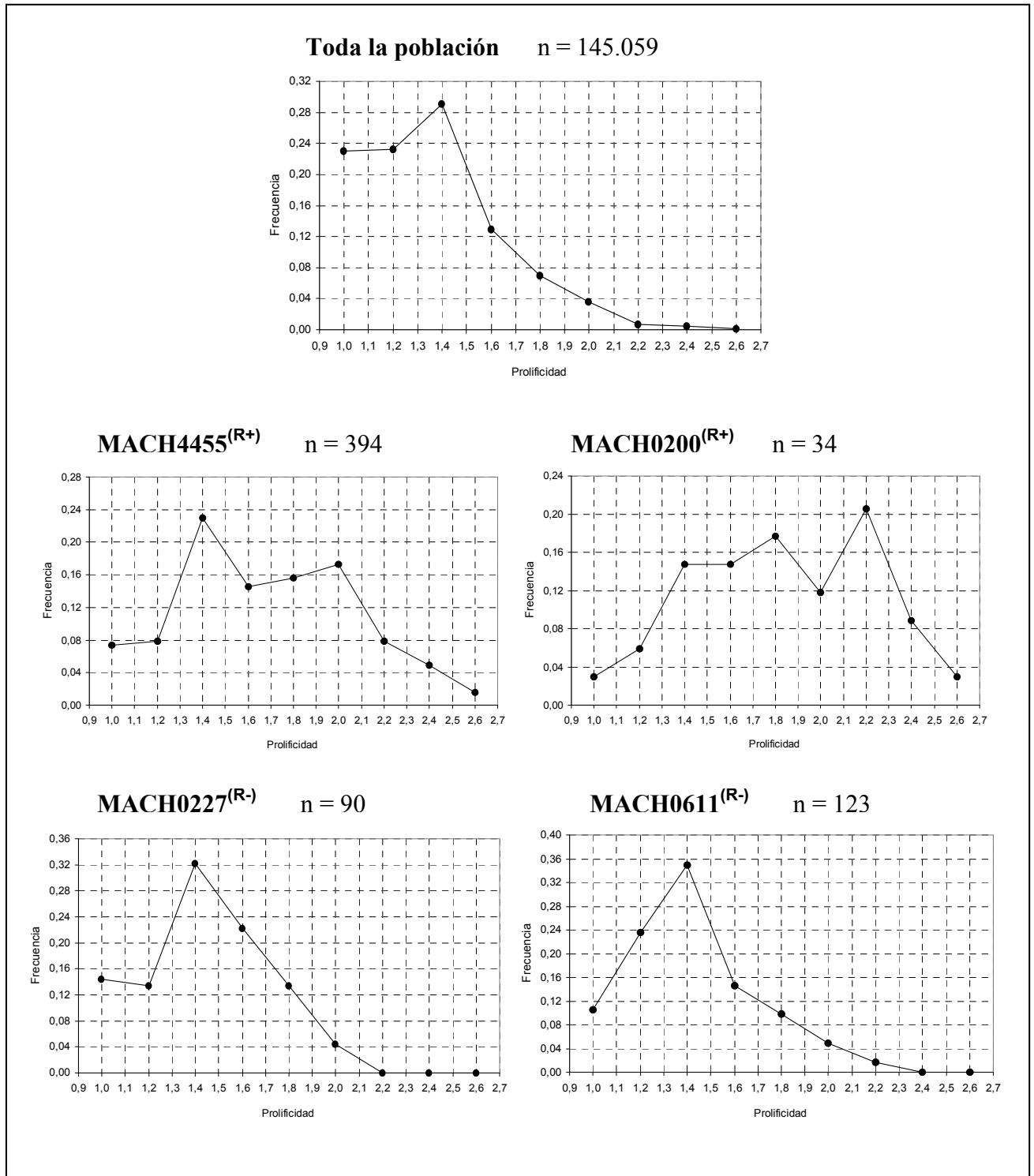


Figura 2.3. Distribución de frecuencias de la prolificidad de todas las ovejas de la población Rasa-aragonesa, de los machos portadores MACH4455^(R+) y MACH0200^(R+) y de los no portadores MACH0227^(R-) y MACH0611^(R-)

La gráfica de distribución de este hermano es similar a la de la población. Debido a que no existen más parientes que proporcionen información, se construyó un resumen del tipo de parto de las hijas del macho portador y de las de su hermano, este último no portador del alelo. Esta información muestra que en el hermano, los partos simples representan la mayor proporción y, los partos dobles, aproximadamente la mitad de los simples. En el macho portador, la mayor proporción corresponde a los partos dobles, seguido de los simples y luego los triples, siendo estos últimos mucho mayor que la proporción de triples del hermano no portador. La información del macho MACH445^(R+) y su hermano se muestra en la figura 2.4.

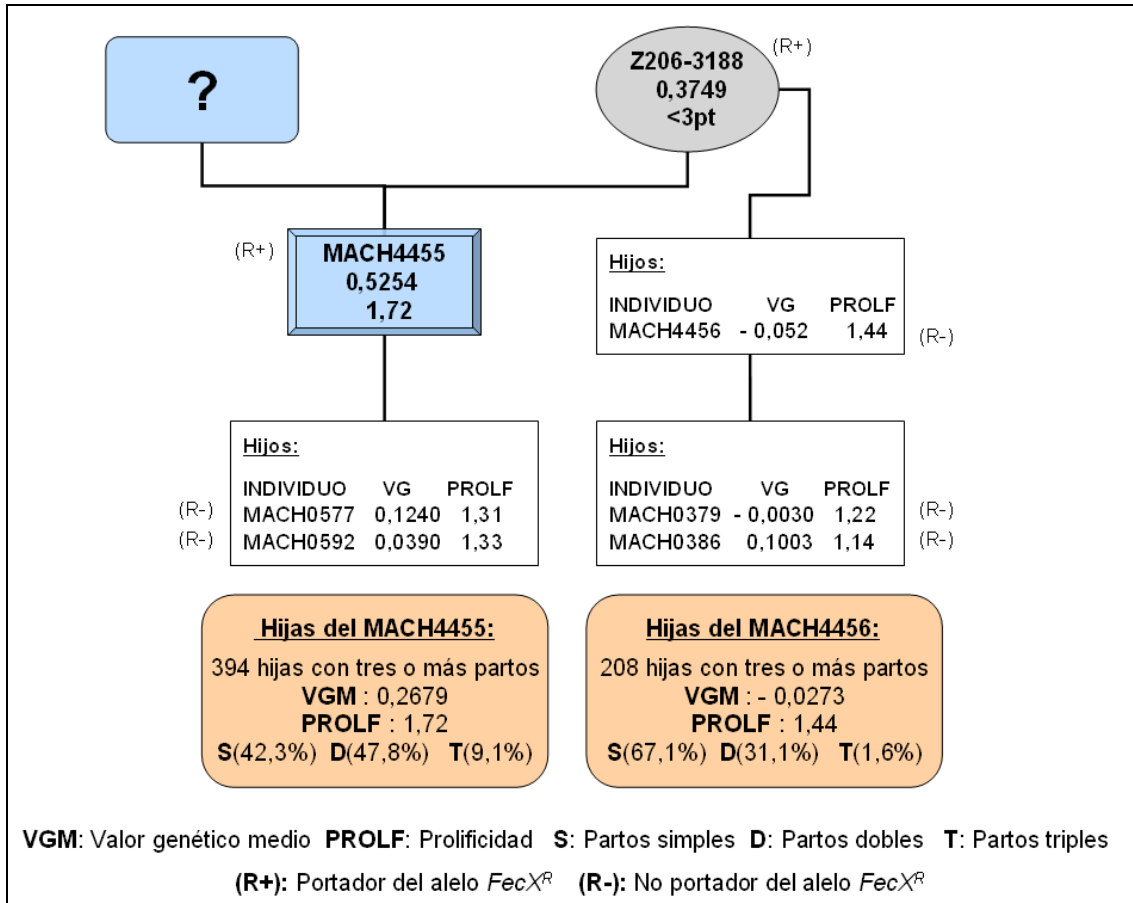


Figura 2.4. Información familiar del macho MACH445^(R+) del ejemplo.

A diferencia del macho precedente, el macho MACH0200^(R+), cuenta con más parientes que proporcionen información. Este individuo proviene de una madre con prolificidad relativamente elevada (1,88) y un padre con prolificidad normal (1,51). Aunque sabemos que el individuo posee un gen mayor y que el alelo fue transmitido por su madre, si no lo supiéramos, la información de sus parientes nos instaría a pensar en ello. Se vio que este macho tiene tres hermanos completos y todos ellos tienen una prolificidad y valor genético bajos, lo cual es muy llamativo, considerando que todos provienen de los mismos padres. También tiene dos hermanas y un hermano por parte de madre. Las hermanas presentan una baja prolificidad (1,17 y 1,33) y el hermano una alta prolificidad (1,79) y una gráfica de frecuencias que sigue el mismo patrón de distribución que la del hermano, con un pico en 2,0. Los valores de prolificidad se corresponden también con los valores genéticos, siendo estos mayores en

aquellos hermanos con mayor prolificidad. Por parte de padre, tiene seis hermanos, todos ellos con una prolificidad normal (1,30 a 1,53). La información de estos parientes se muestra en la figura 2.5

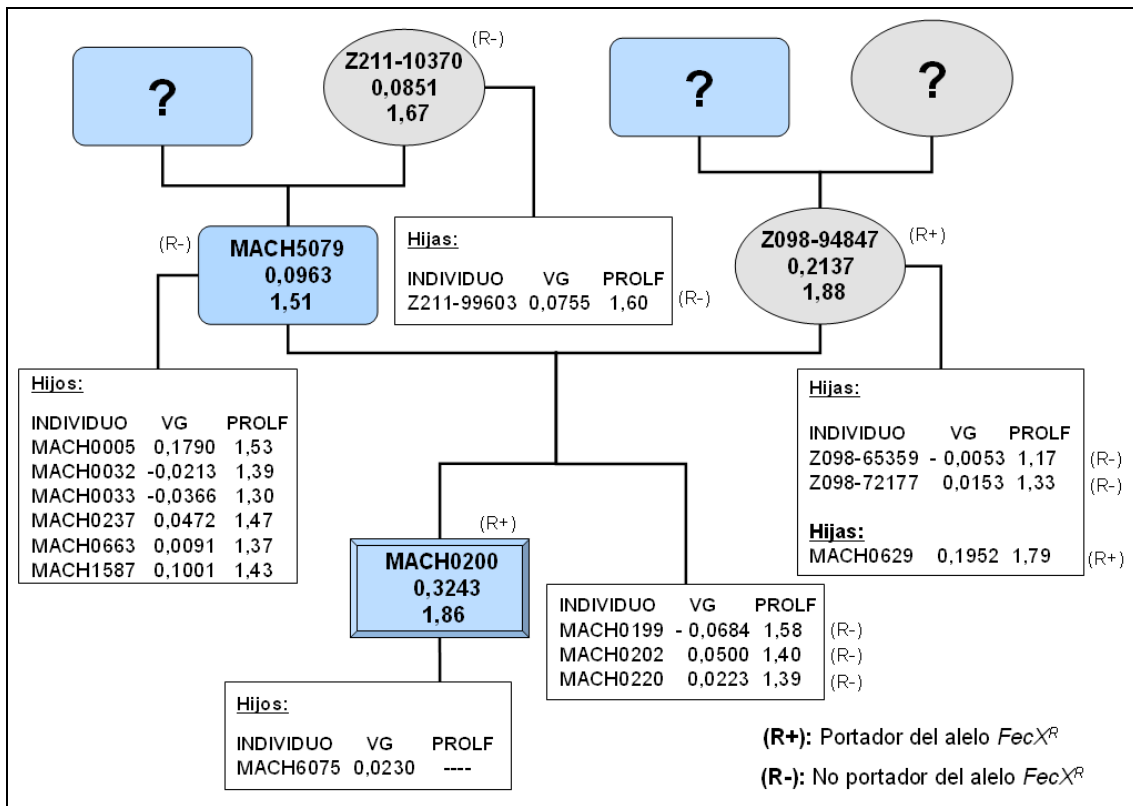


Figura 2.5. Información familiar del macho MACH0200^(R+) del ejemplo

Del macho MACH0227^(R-) se encontraron los padres, la abuela paterna, un hermano completo, dos hermanos por parte de padre y un hijo. Todos ellos presentan una prolificidad similar a la del macho. Los parientes machos, presentaron distribuciones de frecuencias similares a la de la población. No se encontraron parientes que destaquen en prolificidad. La información de los parientes de este macho se muestra en la figura 2.6.

El macho MACH0611^(R-) proviene de una madre y un padre muy prolíficos (2,00 y 1,96 respectivamente). Comparte padre con un hermano que también tiene una prolificidad (1,34) y valor genético bajos. La gráfica de distribución de frecuencias del hermano sigue una distribución en que la mayor frecuencia se produce en 1,0 y luego baja progresivamente a medida que aumenta la prolificidad. Al observar la gráfica de distribución del padre, ésta es totalmente diferente a la de sus dos hijos, mostrando un aumento progresivo de la frecuencia hasta llegar a un máximo en 2,0. Este padre, es hijo de una oveja muy prolífica (2,20) y se comprobó que es portador del alelo *FecX^R*. Sin embargo, ninguno de sus hijos ha heredado el gen debido a que se trata de un gen mayor ligado al cromosoma X. La información familiar del macho MACH0611^(R-) se muestra en la figura 2.7.

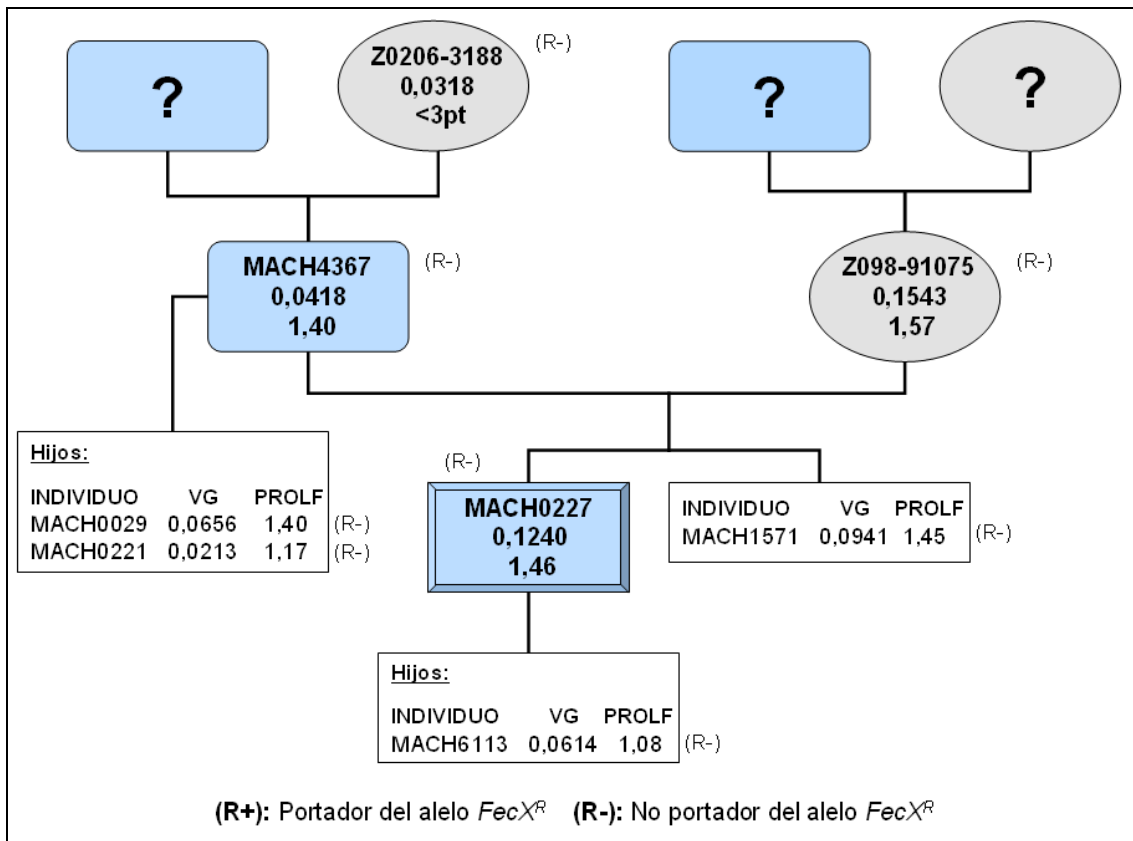


Figura 2.6. Información familiar del macho MACH0227^(R-) del ejemplo

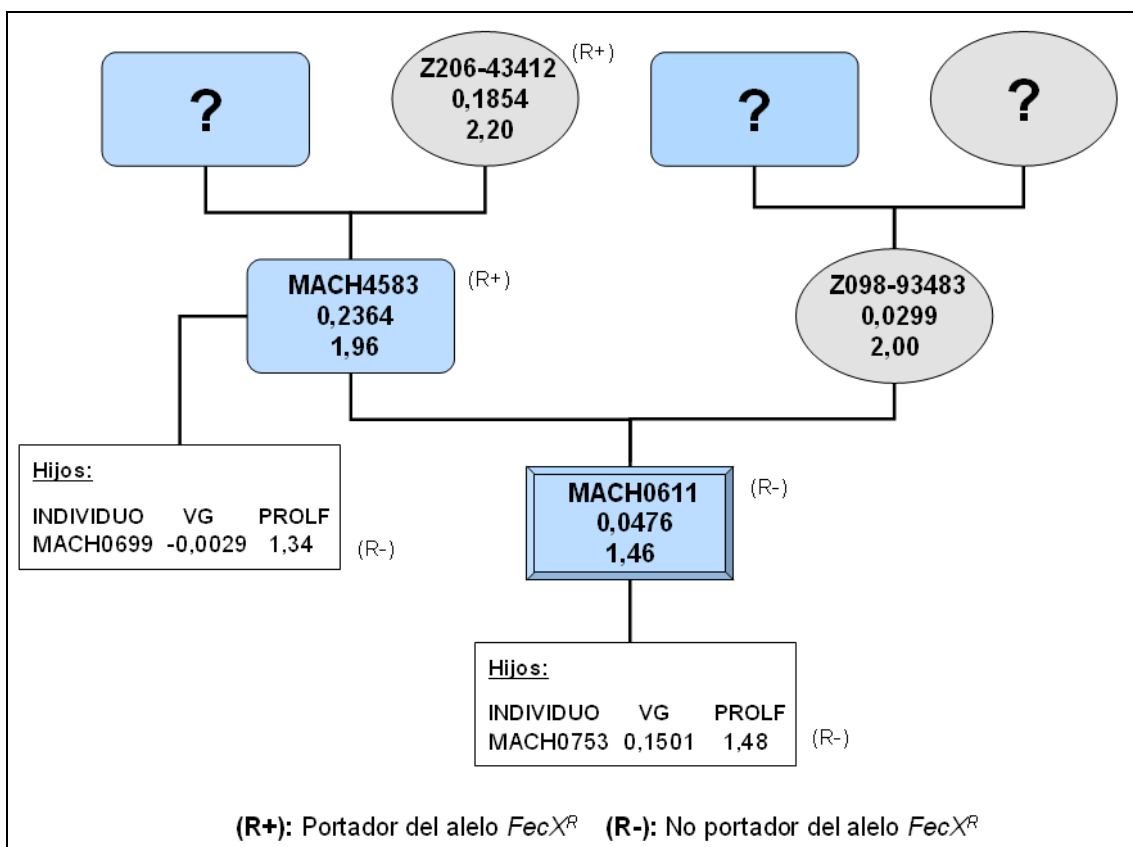


Figura 2.7. Información familiar del macho MACH0611^(R-) del ejemplo.

2.6.4.- Correlación intraclase y análisis estadístico

Los machos portadores presentaron un r_i mucho más elevado que los machos no portadores y que el resto de los machos de la población. El análisis estadístico reveló que los portadores son estadísticamente distintos de los no portadores y del resto de los machos de la población. Sin embargo, entre ellos el análisis detectó diferencias. Por su parte los machos no portadores son estadísticamente similares entre sí y al resto de los machos de la población (Tabla 2.4).

Tabla 2.4. Resultados estadísticos y coeficientes de correlación intraclase de los machos del ejemplo.

Individuo	n¹	PROLF¹	DS¹	IC¹	r_i¹
MACH4455 ^(R+)	3.298	1,72 a	0,71	[1,69 – 1,75]	0,14
MACH0200 ^(R+)	213	1,86 b	0,76	[1,73 – 2,00]	0,15
MACH0227 ^(R-)	424	1,46 c	0,57	[1,39 – 1,54]	0,00
MACH0611 ^(R-)	717	1,46 c	0,56	[1,40 – 1,51]	0,05
MNORMAL ²	29.683	1,44 c	0,57	[1,43 – 1,45]	0,02

¹n: número de registros de partos; **PROLF**: Prolificidad; **DS**: Desviación típica;

¹IC: Intervalo de confianza para la media al 99%; **r_i**: Coeficiente de correlación intraclase

²MNORMAL: Resto de los machos de la población

Diferentes letras indican diferencias significativas (P<0,01)

3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis exploratorio de las poblaciones estudiadas mostró una gran diferencia entre las razas ovinas y la raza caprina Murciano-granadina. Esta última tiene una elevada prolificidad y, a diferencia de las razas ovinas, presenta una mayor frecuencia de partos dobles. En las razas ovinas los partos simples son mayoría y la prolificidad es más baja. La tabla 3.1 muestra los estadísticos descriptivos de la prolificidad para cada población, considerando ovejas con tres o más registros de parto.

Tabla 3.1. Estadísticos descriptivos por razas

Raza	n¹	PROLF¹	Moda	DS¹	CV¹	Mín¹	Máx¹
Aragonesa ²	842.670	1,36	1	0,53	0,39	1	5
Navarra	1.208.587	1,31	1	0,48	0,37	1	5
Manchega	547.524	1,48	1	0,56	0,38	1	6
Assaf	153.107	1,35	1	0,51	0,38	1	3
Murciana ²	88.431	1,77	2	0,61	0,34	1	4

¹n: número de registros de partos; **PROLF**: Prolificidad; **DS**: Desviación típica;

CV: Coeficiente de variación; **Min**: Valor mínimo; **Máx**: Valor máximo.

² Aragonesa: Rasa-aragonesa; Murciana: Murciano-granadina

Las distribuciones de frecuencia de la prolificidad media de cada una de las poblaciones fueron relativamente similares en las razas ovinas, mostrando todas, un pico alrededor de su media poblacional, mientras que la distribución de las cabras resultó ser totalmente diferente, ya que mostró dos picos muy marcados (en 1,6 y 2,0). Esta diferencia en prolificidad, junto con otros motivos que se especificarán en el apartado 3.2 de esta sección, nos instó a realizar una variación del protocolo para analizar dicha población. La figura 3.1.1 del anexo, muestra la distribución de frecuencias de la prolificidad de cada una de las poblaciones ovinas y la figura 3.1.2 de toda la población de cabras Murciano-granadina.

Las estimas de heredabilidad y repetibilidad obtenidas en cada una de las poblaciones analizadas estuvieron dentro de los valores esperables para el carácter tamaño de camada, a excepción de la heredabilidad obtenida en la raza Navarra, cuyo valor fue notablemente más bajo, lo que nos resulta muy extraño ya que este valor es menor que 0,01. Estos valores se muestran en la tabla 3.2.

3.1.- Poblaciones ovinas

Después de aplicar la metodología establecida para la identificación de candidatos en cada una de las poblaciones ovinas, se encontraron siete machos que presentaron características que nos hacen pensar en la posibilidad de existencia de un gen mayor. Cinco de ellos son machos de la raza Manchega, los otros dos pertenecen a la raza Navarra. A continuación se detalla lo observado en cada raza ovina.

Tabla 3.2. Componentes de varianza y parámetros genéticos para el tamaño de camada en las razas analizadas

Raza	σ^2_u	σ^2_{Ep}	σ^2_ε	σ^2_p	h^2	r
Aragonesa	0,0097 ± 0,0003	0,0112 ± 0,0004	0,2186 ± 0,0003	0,2396	0,0405 ± 0,0016	0,0470 ± 0,0017
Navarra	0,0009 ± 0,0002	0,0168 ± 0,0003	0,1780 ± 0,0002	0,1958	0,0047 ± 0,0013	0,0860 ± 0,0016
Manchega	0,0066 ± 0,0003	0,0068 ± 0,0003	0,2482 ± 0,0003	0,2617	0,0254 ± 0,0012	0,0261 ± 0,0014
Assaf	0,0057 ± 0,0005	0,0058 ± 0,0006	0,1952 ± 0,0006	0,2068	0,0277 ± 0,0026	0,0283 ± 0,0029
Murciana ¹	0,0047 ± 0,0008	0,0092 ± 0,0010	0,2570 ± 0,0009	0,2711	0,0176 ± 0,0030	0,0342 ± 0,0037

σ^2_u : Varianza genética aditiva; σ^2_{Ep} : Varianza ambiental permanente; σ^2_ε : Varianza residual; h^2 : Heredabilidad; r: Repetibilidad

¹Murciana: Murciano-granadina

3.1.1.- Raza Rasa-aragonesa

Como se mencionó en la sección 2.0, en esta población solo se analizaron machos no portadores del alelo *FecX^R* y que no fueran hijos de ovejas portadoras. El objetivo era encontrar indicios de un gen mayor distinto al alelo ROA. Tras las últimas valoraciones genéticas del programa de mejora que lleva la Cooperativa de Carnes Oviaragón, se observaron animales que presentaban un valor genético muy elevado y que no eran portadores del alelo ROA, motivo por el que se pensó en analizar nuevamente la población corrigiendo por el efecto de dicho alelo. Sin embargo, no se observaron animales con características sugerentes de la presencia de gen mayor distinto al ROA. Aquellos animales destacados por su valor genético, mostraron distribuciones de la prolificidad similares a la de la población. El análisis de los parientes tampoco evidenció la posible segregación de un gen mayor. Nos resulta extraño que estos machos presenten un elevado valor genético, similar a los machos ROA, sin ser portadores de dicho alelo. Creemos que de existir otro gen mayor en estos animales, probablemente sería necesaria la utilización de una metodología distinta para detectar la segregación si la hubiere, como la aplicación de un análisis de segregación, utilizando datos de tasa de ovulación para eliminar aún más el efecto del ambiente.

3.1.2.- Raza Assaf

En esta población se observaron machos muy prolíficos, sin embargo el número de hijas por macho fue limitante para extraer conclusiones a nivel de individuo. Cabe destacar que el inconveniente fue el número de hijas que podían ser incluidas en el análisis, es decir, aquellas que presentaban tres o más partos. Muchos de estos machos presentaron distribuciones de la prolificidad de las hijas con dos frecuencias máximas pero al analizar sus parientes, además del bajo número de hijas, nos encontramos con padres desconocidos y/o ausencia de hermanos o hijos del macho. Por esta razón creemos que sería conveniente analizar mas adelante esta población a la espera de contar con mayor información por macho.

3.1.3.- Raza Manchega

En esta raza se observaron varios machos con características sugerentes de la presencia de un gen mayor, sin embargo, se decidió dejar solo aquellos que cumplieran con la mayoría de los pasos del protocolo y que por tanto contaban con mayores indicios de un gen mayor. Fueron cinco los machos elegidos como candidatos. Éstos se muestran en la tabla 3.2 junto con su prolificidad, valor genético, coeficiente de correlación intraclase y resultados estadísticos.

Tabla 3.3. Machos seleccionados como candidatos en raza ovina Manchega

Individuo	n ¹	PROLF ¹	DS ¹	IC ¹	VG ¹	r _i ¹
MACH701	239	1,72 a	0,70	[1,60 – 1,83]	0,1882	0,16
MACH702	90	1,69 a	0,68	[1,50 – 1,88]	0,0119	0,04
MACH703	91	1,62 ab	0,76	[1,41 – 1,82]	0,0730	0,18
MACH704	160	1,59 ab	0,66	[1,45 – 1,72]	0,0309	0,08
MACH705	243	1,56 ab	0,55	[1,46 – 1,65]	0,1105	0,05
MNORMAL ²	158.988	1,48 b	0,57	[1,47 – 1,48]	-	0,02

¹n: número de registros de partos; **PROLF**: Prolificidad; **DS**: Desviación típica;

¹IC: Intervalo de confianza para la media al 99%; **VG**: Valor genético;

¹r_i: Coeficiente de correlación intraclase

²MNORMAL: Resto de los machos de la población

Diferentes letras indican diferencias significativas (P<0,01)

A continuación se analizan uno a uno los candidatos. Tras cada descripción, se muestra la información de los parientes en un diagrama familiar que reúne la información de aquellos que muestran señales de la posible segregación de un gen mayor. Tanto la identificación del animal como la de sus parientes se encuentran codificadas.

▪ Macho MACH701

La llamativa distribución de la prolificidad de las hijas de este macho, junto con su elevada prolificidad (1,72) y coeficiente de correlación intraclase ($r_i = 0,16$), fueron los principales elementos considerados para elegirlo como candidato. La distribución de la prolificidad de las hijas muestra dos picos muy marcados (en 1,4 y 2,0) y con un número de hijas no despreciable (Figura 3.2). Aunque existe poca información de los parientes, se vio que dos hermanas por parte de madre tienen prolificidades con una diferencia importante (1,25 y 1,67). La madre que comparten, también presenta una prolificidad (1,75) y un valor genético altos. Por otro lado, se desconoce la prolificidad del padre debido a que éste no tiene hijas con registros de parto, aunque por esta vía, también existe un pariente con alta prolificidad, la abuela paterna (1,89). La información familiar de este candidato se detalla en la figura 3.3. Si bien, la evidencia genealógica de la posible transmisión de un gen mayor es escasa, creemos sugerentes las características de la prolificidad de este macho.

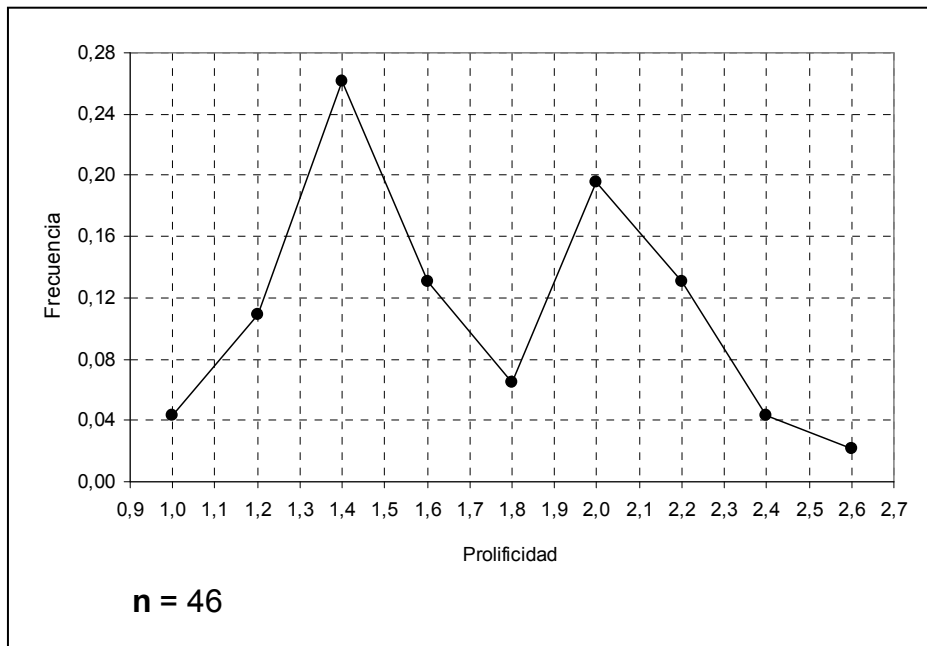


Figura 3.2. Distribución de frecuencias de la prolificidad de las hijas del macho MACH701 en raza Manchega

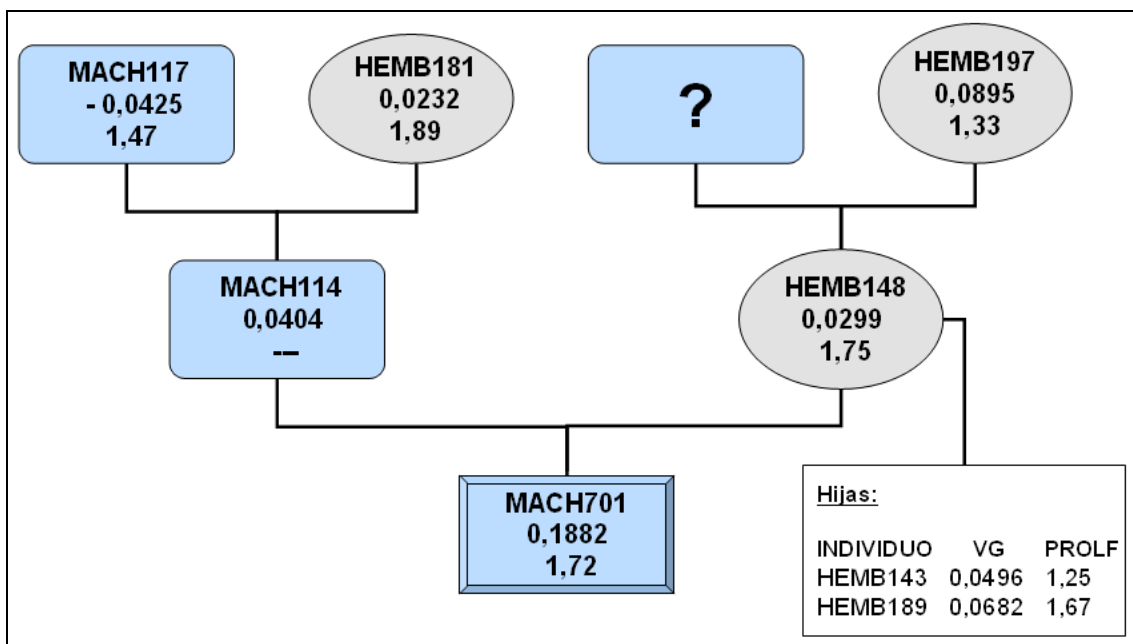


Figura 3.3. Información familiar del macho MACH701 en raza Manchega

▪ Macho MACH702

Este individuo, presentó el valor genético más bajo de los cinco candidatos, sin embargo, tiene una elevada prolificidad (1,69) y la gráfica de distribución de frecuencias de la prolificidad de las hijas, muestra que la mayor cantidad de éstas, alrededor de un 31%, promedian un tamaño de camada de 2.0 (Figura 3.4). Respecto de sus parientes, el individuo comparte padre con un hermano cuya gráfica sigue exactamente el mismo patrón, y su prolificidad es

de 1,86. Por esta misma vía, se encontró que la abuela paterna tiene hijas con baja prolificidad y valor genético negativo y otras con alta prolificidad y valor genético positivo, destacando la hembra HEMB201 con una prolificidad de 2,25. Su madre, tiene un valor genético negativo y no tiene descendencia ni ascendientes que muestren diferencias importantes en dicho carácter. La información familiar se muestra en la figura 3.5. El coeficiente de correlación intraclase de este candidato no es destacable ($r_i = 0,04$). De existir un gen mayor, éste habría sido transmitido posiblemente vía padre dado los aspectos mencionados.

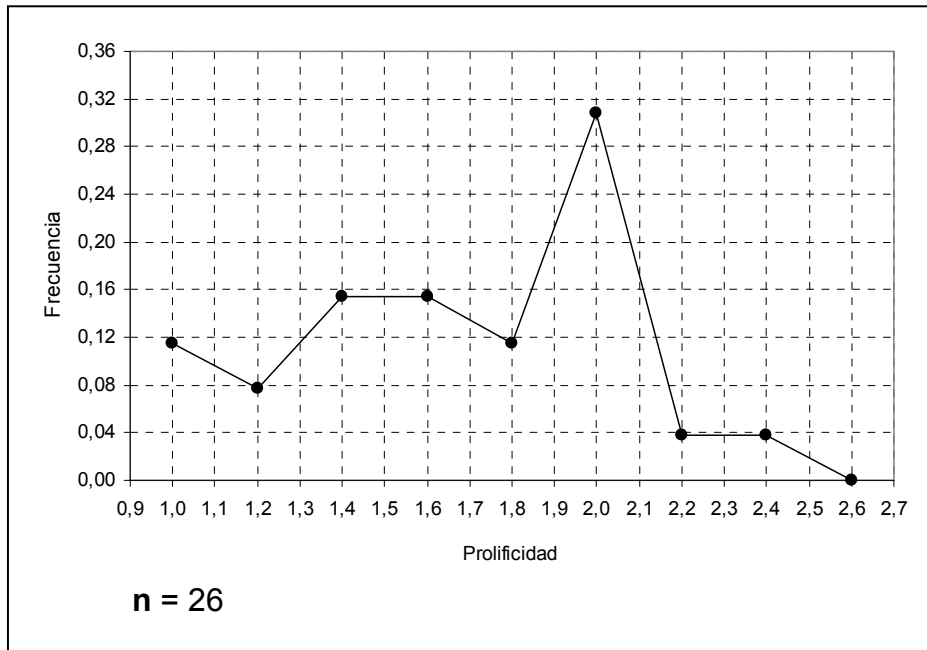


Figura 3.4. Distribución de frecuencias de la prolificidad de las hijas del macho MACH702 en raza Manchega.

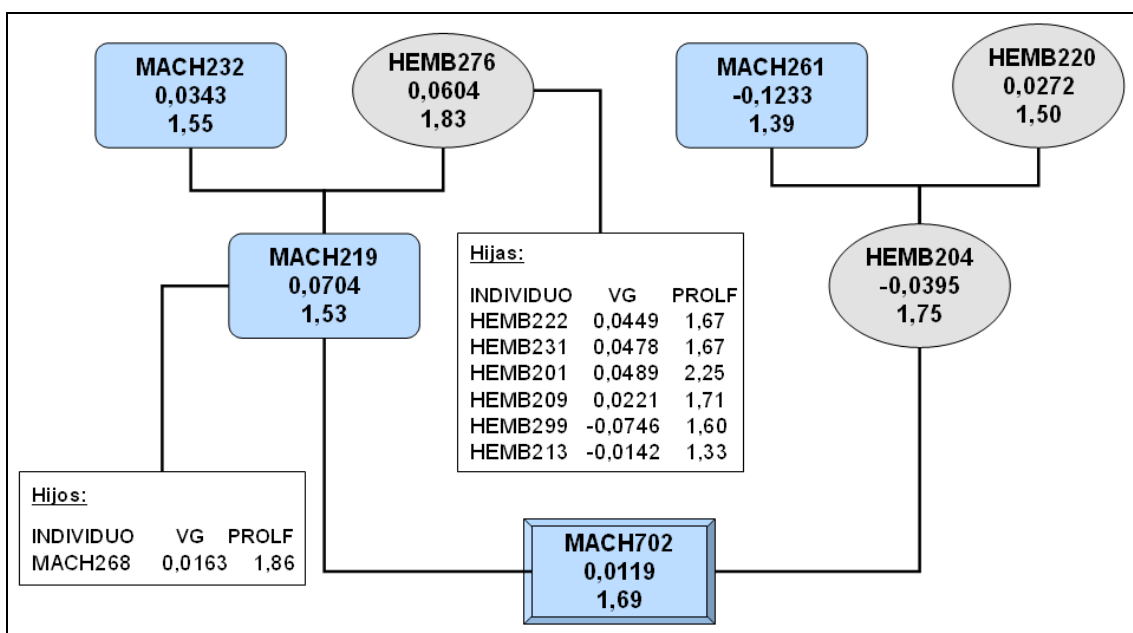


Figura 3.5. Información familiar del macho MACH702 en raza Manchega.

▪ **Macho MACH703**

Este individuo llamó nuestra atención por su alto coeficiente de correlación intraclase ($r_i = 0,18$) y por la distribución de frecuencias de la prolificidad de sus hijas, que presenta dos picos muy marcados (en 1,4 y 2,0), siendo ésta, totalmente diferente a la de un hermano por parte de padre, cuya distribución mostró un solo pico y es similar a la de la población. Este hermano tiene un valor genético negativo y su prolificidad (1,33) es menor a la media de la población (1,48). Por su parte, el padre tiene una prolificidad similar a la media de la raza, pero su gráfica también presenta dos picos, aunque éstos se producen en 1,4 y 1,8. Las hijas de la abuela paterna también presentan diferencias importantes en prolificidad, existiendo dos ovejas con baja prolificidad (1,0 y 1,33) y dos con alta prolificidad (1,67 y 1,88) lo que también se corresponde con menores y mayores valores genéticos respectivamente. La distribución de la prolificidad de las hijas de este macho se muestra en la figura 3.6 y la información familiar se detalla en la figura 3.7.

▪ **Macho MACH704**

Al analizar la información familiar de este macho se encontró que proviene de una madre muy prolífica (2,0). Ésta tiene cuatro hijas con prolificidades muy diferentes, dos de ellas con baja prolificidad y valor genético negativo y dos con alta prolificidad y valor genético positivo. El padre a su vez presenta una prolificidad similar a la del macho y una gráfica de distribución de frecuencias que presenta dos picos (en 1,4 y 1,8), lo que también nos hace pensar que por esta vía pudo haber sido heredado un posible gen mayor. También el macho tiene dos hermanos por parte de padre, ambos con una prolificidad similar (1,45 y 1,42). Uno de ellos presenta una gráfica de distribución de la prolificidad con dos picos (en 1,4 y 2,0) y el otro una similar a la distribución de la población. Por otra parte, el coeficiente de correlación intraclase de este candidato es ligeramente superior al del resto de los machos de la población ($r_i = 0,08$). Un aspecto muy llamativo es la distribución de frecuencias de la prolificidad de las hijas que presenta tres picos (en 1,4, 1,8 y 2,2), lo que capta nuestra atención junto con los antecedentes familiares ya mencionados. La figura 3.8 muestra la distribución de la prolificidad de las hijas del candidato y la figura 3.9 su información familiar.

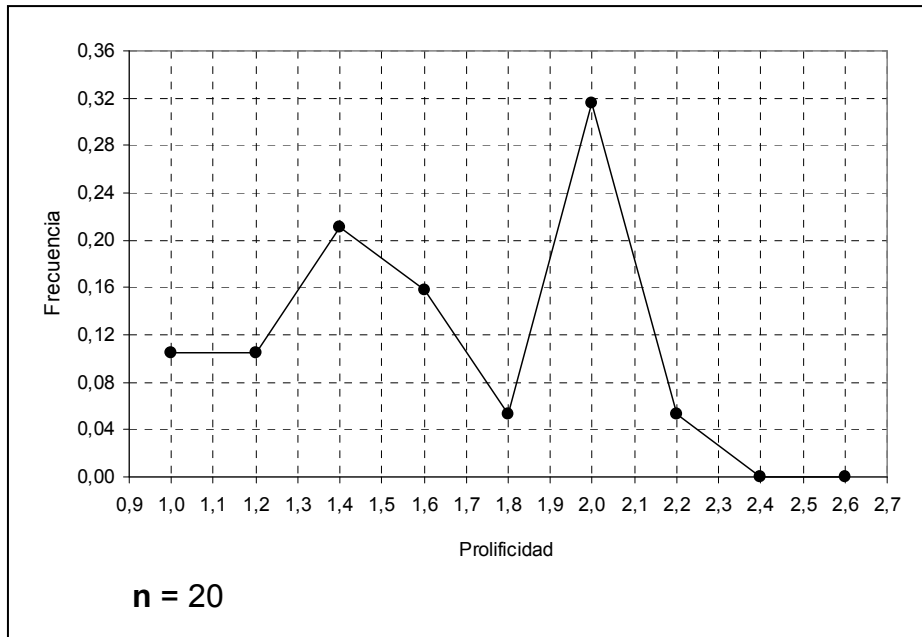


Figura 3.6. Distribución de frecuencias de la prolificidad de las hijas del macho MACH703 en raza Manchega.

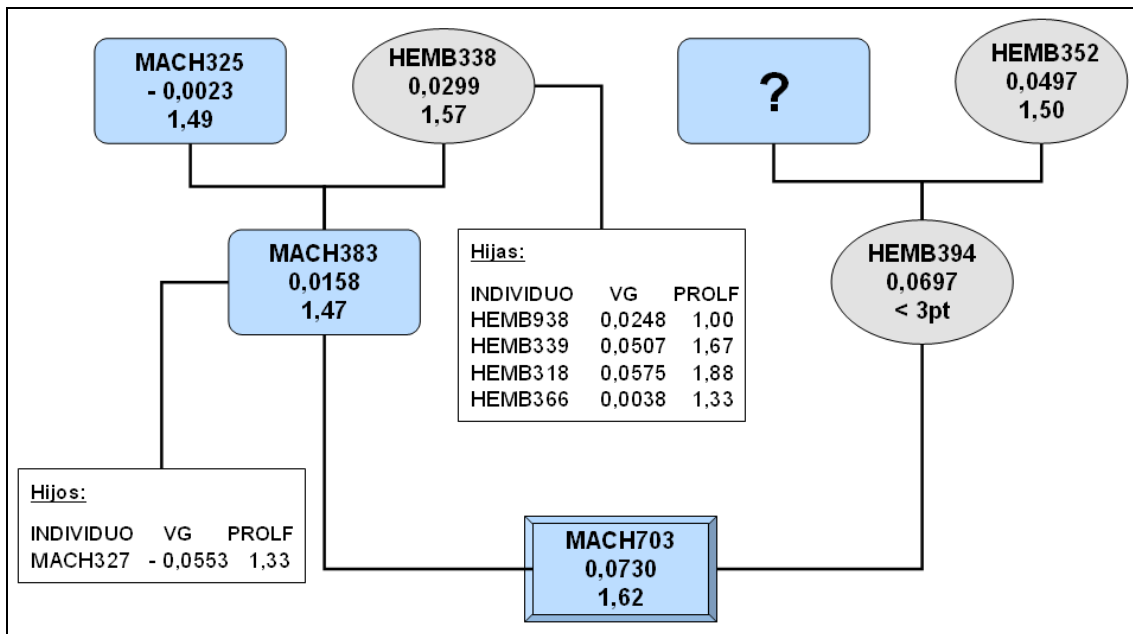


Figura 3.7. Información familiar del macho MACH703 en raza Manchega.

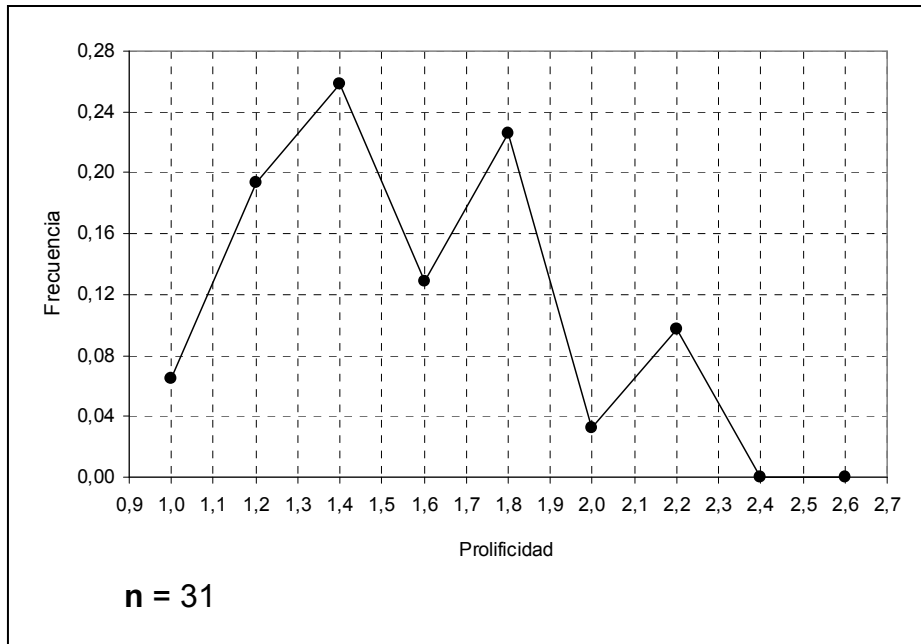


Figura 3.8. Distribución de frecuencias de la prolificidad de las hijas del macho MACH704 en raza Manchega.

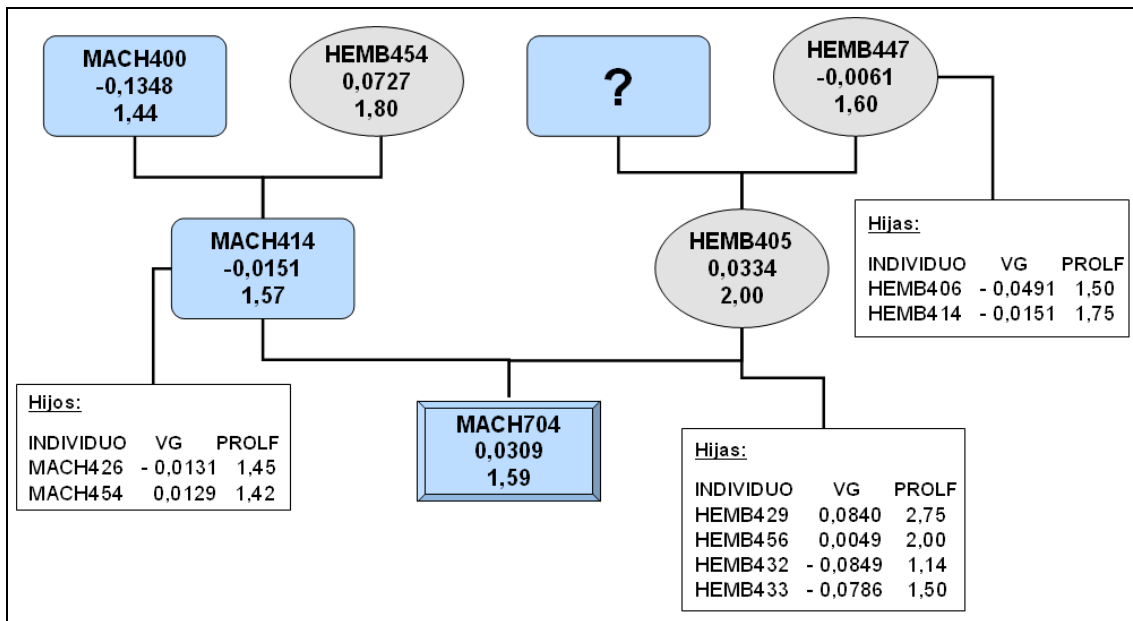


Figura 3.9. Información familiar del macho MACH704 en raza Manchega.

▪ **Macho MACH705**

De todos los candidatos manchegos, éste es el que tiene menor prolificidad (1,56), sin embargo su valor genético es elevado. La distribución de frecuencias de la prolificidad de sus hijas muestra dos picos (en 1,4 y 1,8) con frecuencia similar (Figura 3.10). Procede de una madre muy prolífica (2,33) cuyo valor genético también es elevado. Tiene cinco hermanas por parte de madre, cuatro con prolificidades relativamente altas (1,50 – 1,75) y una con prolificidad similar a la de su madre, la hembra HEMB538. La abuela por parte de madre tiene hijas con diferencias importantes, es decir, un grupo con baja prolificidad (1,0 – 1,33) y otro con alta prolificidad (1,67 – 2,33), lo que se corresponde también con valores genéticos negativos y positivos respectivamente. Por otro lado, el padre no tiene hijas con registros de partos, con lo que no presenta un valor de prolificidad, no obstante tiene otro hijo, medio hermano del candidato, que presenta un valor genético y una prolificidad bajos (1,38). Creemos que, de existir un gen mayor, éste provendría probablemente de la madre, que a su vez, lo habría heredado de la abuela materna, dado los antecedentes mencionados. La información familiar del candidato se muestra en la figura 3.11.

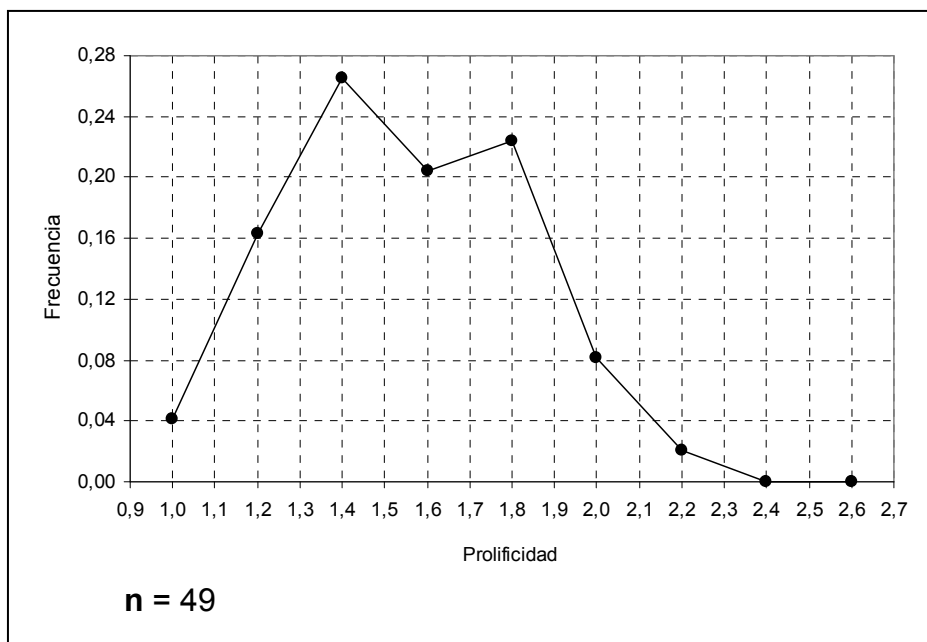


Figura 3.10. Distribución de frecuencias de la prolificidad de las hijas del macho MACH705 en raza Manchega.

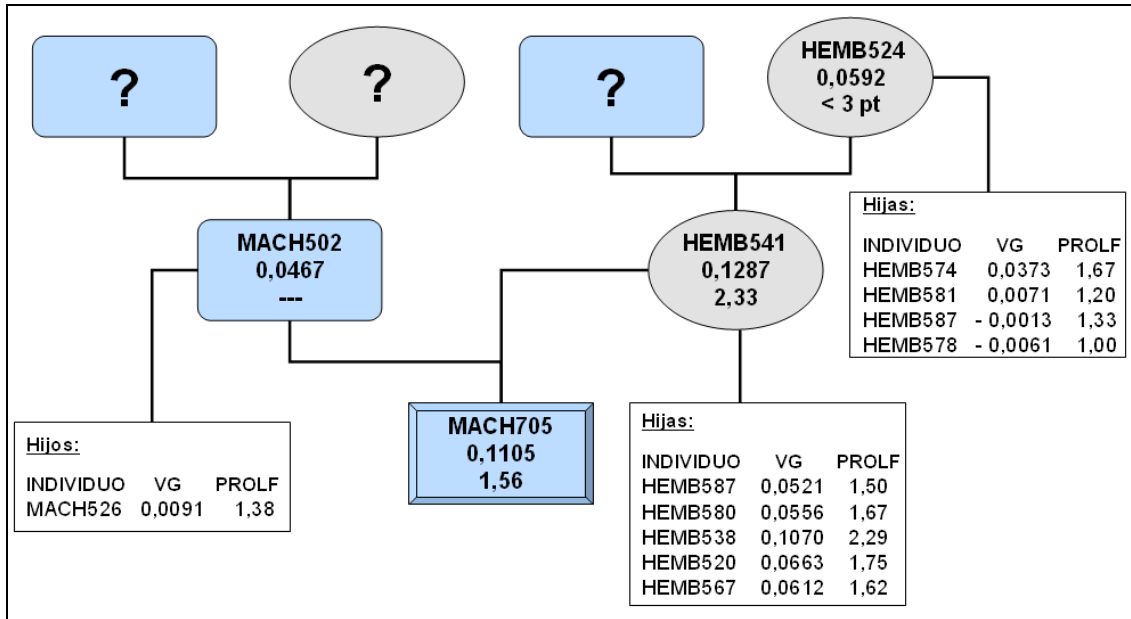


Figura 3.11. Información familiar del macho MACH705 en raza Manchega.

A la luz de los resultados expuestos, creemos posible que un gen mayor esté afectando la prolificidad de estos candidatos. En todos ellos la distribución de frecuencias de la prolificidad de sus hijas fue claramente diferente de la distribución de la población y a la del resto de los machos. Esta característica fue observada también en los estudios previos a la identificación del alelo *FecX^R* en la población Rasa-aragonesa, donde Jurado y Calvo (2007) observaron que los machos, que posteriormente fueron confirmados para el alelo en cuestión, presentaban gráficas de la prolificidad de sus hijas con dos picos claramente marcados.

Los genes mayores causan grandes diferencias entre animales con diferentes genotipos y pueden ser reconocidos mediante un análisis de la estructura de parentesco y la información fenotípica (Montaldo y Kinghorn, 2000). En este sentido, creemos destacable que medios hermanos difieran tanto en prolificidad, como el caso del candidato MACH703 y su hermano MACH327, las hermanas por parte de madre del macho MACH704 o las hermanas de la madre del candidato MACH705. Según Falconer y Mackay (1996), efectos de 0,5 a 1,0 desviaciones típicas fenotípicas sobre la media poblacional pueden considerarse “grandes” y ser atribuibles a un gen mayor. En nuestro caso se observaron diferencias de más de 1,0 desviación típica respecto de la media poblacional en los parientes mencionados. La diferencia en prolificidad también se correspondía con los valores genéticos de dichos parientes. Se observó que los parientes con mayor prolificidad tenían mayores valores genéticos y aquellos con baja prolificidad, valores genéticos bajos o negativos. Al respecto, Martínez-Royo et al. (2008) estudiaron en Rasa-aragonesa la relación entre valores genéticos elevados y la presencia del alelo *FecX^R* encontrando una asociación entre los valores genéticos más altos y ovejas que posteriormente fueron confirmadas heterocigotas para el alelo. También analizaron los animales que poseían los valores genéticos más bajos y en ningún caso se detectó el alelo favorable.

Respecto de la posibilidad de existencia de un gen mayor ligado al cromosoma X, no se observaron las características típicas del modo de herencia de este tipo de genes, aunque no se podría descartar con seguridad la existencia de alguno de ellos si los hubiere, ya que la mayoría de éstos causa infertilidad de las hembras que estén en homocigosis y, por tanto, es muy probable que en esa condición sean desechadas por los ganaderos y, en consecuencia, no consideradas en el registro de producciones. En este estudio lo que se observó, en algunos casos, fue la transmisión de un posible gen autosómico, ya que hijos de un determinado macho diferían de forma importante en prolificidad. Esta diferencia quedó de manifiesto al observar sus gráficas de distribución de frecuencias, que presentaban dos picos en hijos prolíficos y uno en aquellos con prolificidad normal. Esto nos hace pensar que de existir un gen en esos individuos, pudieran haberlo heredado del padre, dado que por vía materna no se encontraron indicios para pensar lo contrario. Un ejemplo de lo anterior fue la situación del macho MACH703 y su hermano por parte de padre cuya diferencia en prolificidad y en la distribución de la prolificidad de sus hijas es muy llamativa. Esta característica solo es posible en caso de que el gen no se encuentre ligado al cromosoma X.

Otro aspecto llamativo es el alto coeficiente de correlación intraclase que presentan los candidatos MACH701 y MACH703 respecto del resto de los machos de la población. Estudios similares (Davis et al., 1991; Malher y Le Chère, 1998; Bodin et al., 2002) han utilizado este índice a nivel de tasa de ovulación para demostrar la presencia de un gen mayor. En estos estudios, los altos valores de algunos machos eran similares a los obtenidos en estudios con razas en que sí segregan genes mayores para prolificidad y, por tanto, concluyeron que era muy probable que un gen con gran efecto sobre la tasa de ovulación estuviera segregando en esas poblaciones.

El análisis estadístico de los candidatos Manchegos (tabla 3.2) muestra que, entre éstos, no existe una diferencia importante en prolificidad, sin embargo, al compararlos con el grupo MNORMAL (resto de los machos de la población), los machos MACH701 y MACH702 son los únicos que fueron estadísticamente diferentes. Esta diferencia también se observó al comparar los intervalos de confianza de los candidatos. Los machos mencionados, son los únicos cuyos intervalos de confianza están sobre el intervalo del grupo MNORMAL. Los tres restantes, presentaron intervalos mucho más amplios que incluyen el intervalo del grupo MNORMAL. No obstante, el que un candidato no difiera a nivel estadístico del resto de los machos, no lo excluye de dicha condición ya que este resultado depende en parte del tamaño de la muestra (Blasco, 2010) que, en este caso, es función del número de hijas y del número de partos por hija. Por ello, los resultados estadísticos, junto con los valores de coeficientes de correlación intraclase, pueden ayudarnos a establecer prioridades dentro de los candidatos, a efectos de genotipar para los genes mayores ya conocidos, o bien, continuar un estudio relativo a la identificación de un nuevo gen o variante alélica relacionado(a) con el aumento de la prolificidad. De ser así, la evidencia de que un gen mayor esté segregando, incrementa la probabilidad de éxito en dichos estudios (Montaldo y Meza, 1998).

3.1.4.- Raza Navarra

Al analizar los machos de esta raza, se observó que la mayoría presentaba gráficas de distribución de frecuencias similares a la de la población. Sin embargo, se encontraron dos machos que escapaban a dicha situación y que, aunque no se encontraron mayores indicios como en los candidatos manchegos, se decidió incluirlos, principalmente debido a que sus gráficas como sus coeficientes de correlación intraclase resultaban muy diferentes de los restantes machos analizados. Los candidatos se muestran en la tabla 3.3 junto con sus valores de prolificidad, valor genético, coeficiente de correlación intraclase y resultados estadísticos.

Tabla 3.4. Machos seleccionados como candidatos en raza ovina Navarra

Individuo	n¹	PROLF¹	DS¹	IC¹	VG¹	r_i¹
MACH101	337	1,41 a	0,52	[1,34 – 1,49]	0,1135	0,13
MACH125	372	1,35 a	0,49	[1,28 – 1,41]	0,0231	0,12
MNORMAL ²	57.415	1,35 a	0,50	[1,34 – 1,35]	-	0,00

¹n: número de registros de partos; **PROLF**: Prolificidad; **DS**: Desviación típica;

¹IC: Intervalo de confianza para la media al 99%; **VG**: Valor genético;

¹r_i: Coeficiente de correlación intraclase

²MNORMAL: Resto de los machos de la población

Diferentes letras indican diferencias significativas (P<0,01)

A continuación se analizan los candidatos de la raza Navarra. Tras cada descripción se muestra la información de los parientes en un diagrama familiar. Al igual que los candidatos de la raza Manchega, la identificación de los candidatos navarros y la de sus parientes está codificada.

▪ **Macho MACH101**

Este individuo presenta cuatro características llamativas. La primera es que la distribución de frecuencias de la prolificidad de las hijas presenta dos picos (en 1,40 y 1,80) siendo el segundo pico de mucho menor frecuencia que el primero. En segundo lugar, tiene un hijo con una prolificidad similar (1,40), pero con un valor genético negativo y su gráfica de distribución de frecuencias fue similar a la de la población. En tercer lugar, la prolificidad de las hijas del abuelo por parte de padre presentan una distribución de frecuencias con dos picos (en 1,20 y 1,80) y por último, el coeficiente de correlación intraclase es elevado comparado con el del resto de los machos de la población (r_i = 0,13). También se observó que las distribuciones de la prolificidad de las hijas de los hermanos por parte de padre y la del hijo del macho seguían la misma distribución de la población. No se encontraron parientes por vía materna. La grafica de distribución de la prolificidad de las hijas del macho se muestra en la figura 3.12 y la información familiar en la figura 3.13.

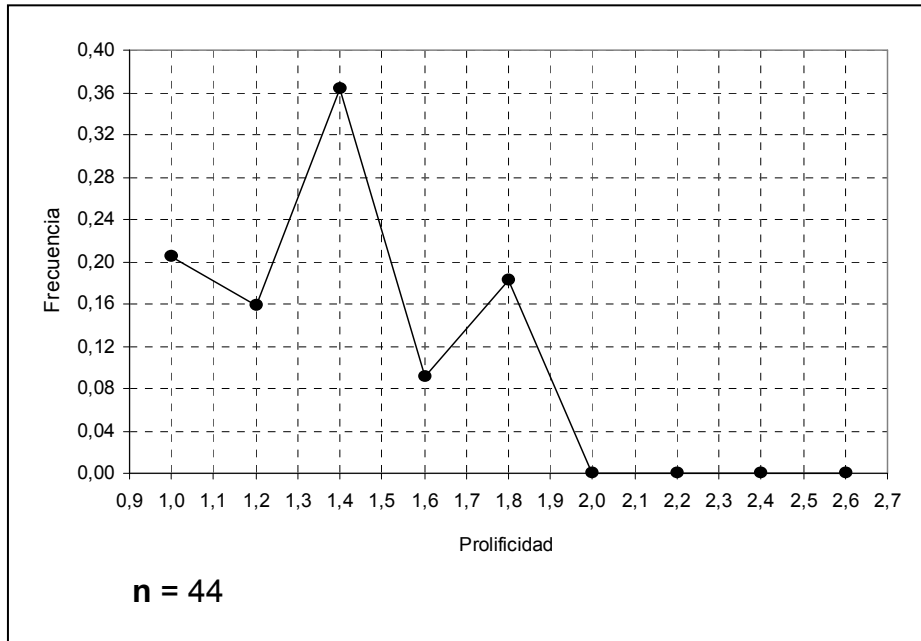


Figura 3.12. Distribución de frecuencias de la prolificidad de las hijas del macho MACH101 en raza Navarra.

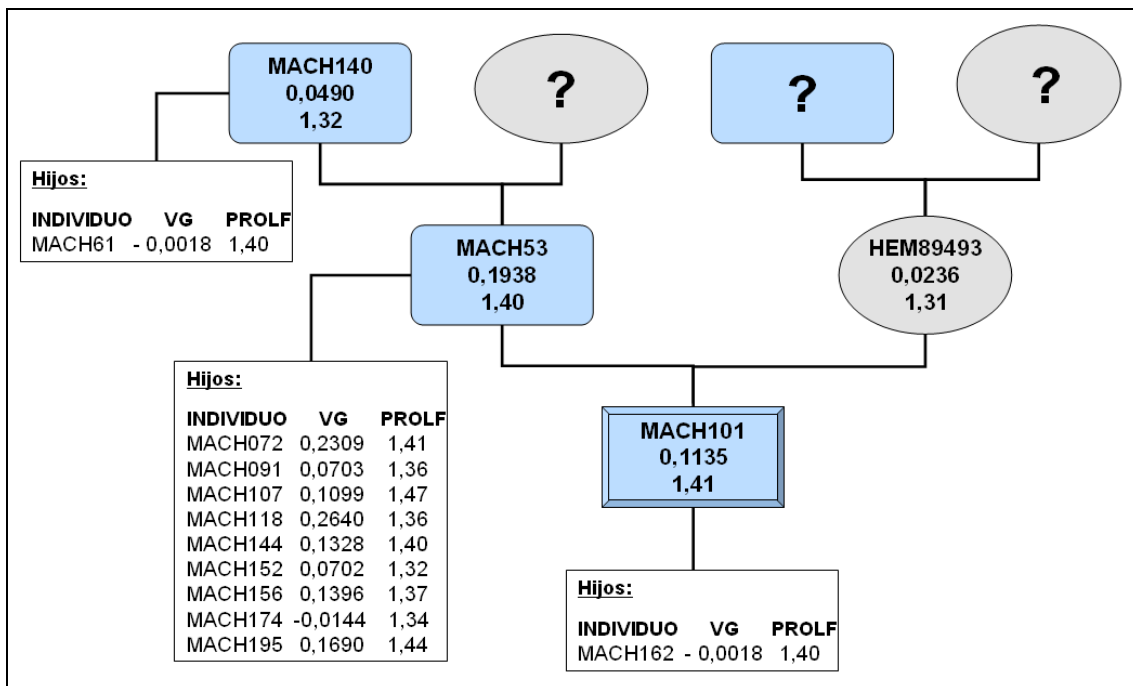


Figura 3.13. Información familiar del macho MACH101 en raza Navarra.

▪ **Macho MACH125**

De este macho se encontró muy poca información de parientes y solo se conocen el padre, la madre y los hijos del macho. La distribución de la prolificidad de las hijas del macho presenta dos picos, pero a diferencia del candidato anterior, éstos se producen en 1,2 y 1,6. Su coeficiente de correlación intraclase es elevado en comparación con el resto de los machos de la población ($r_i = 0,12$). No se encontraron hermanos por parte de padre ni

de madre. Ninguno de los hijos del macho presentó una gráfica de distribución de frecuencias de la prolificidad como la de su padre.

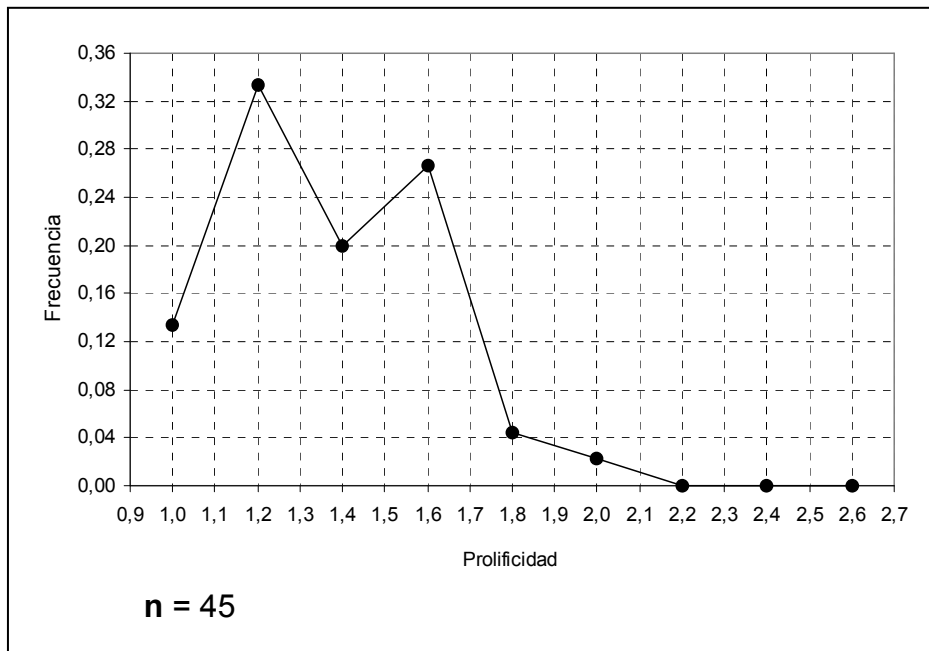


Figura 3.14. Distribución de frecuencias de la prolificidad de las hijas del macho MACH125 en raza Navarra.

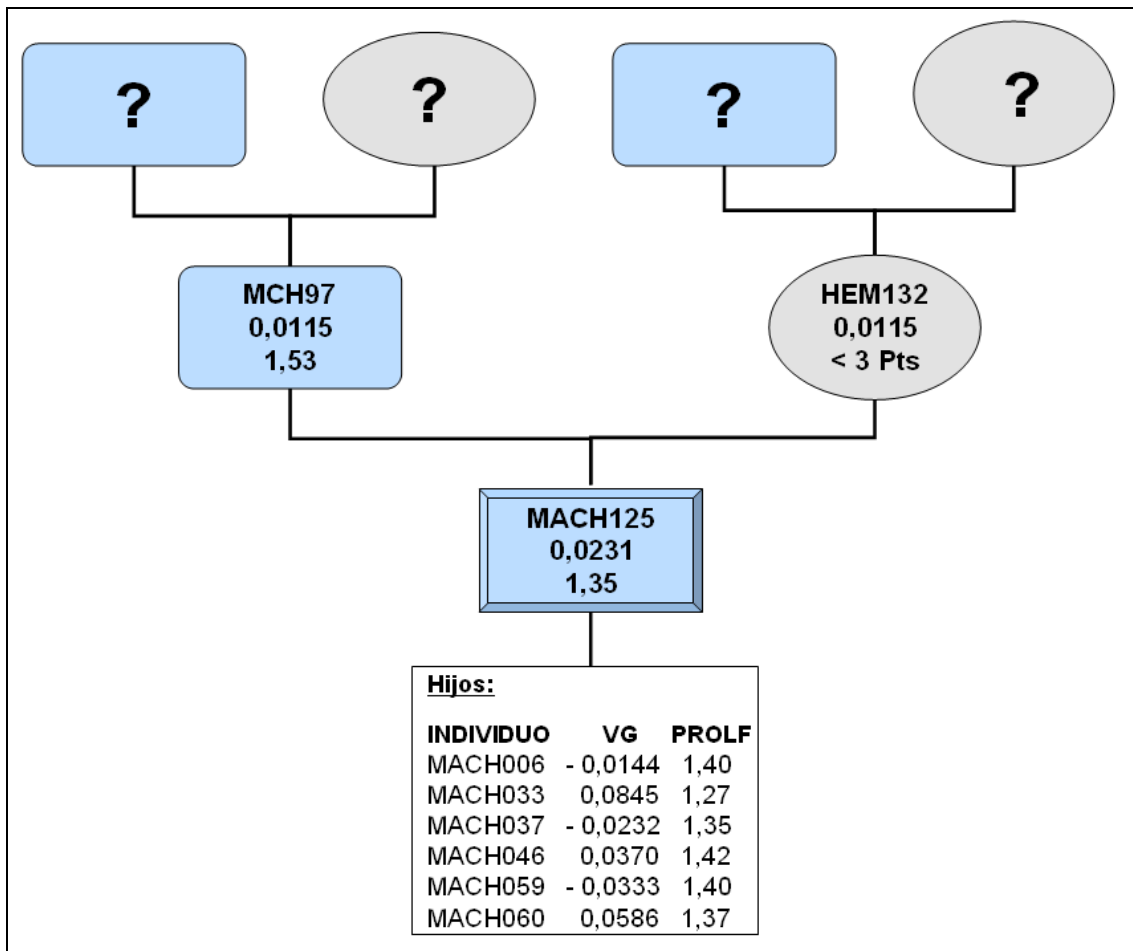


Figura 3.15. Información familiar del macho MACH125 en raza Navarra.

En estos candidatos lo más llamativo fueron las distribuciones de frecuencias de la prolificidad de las hijas y sus respectivos valores de coeficientes de correlación intraclase. Al respecto, un estudio realizado por Cemal y Karaca (2002), analizó el efecto de los genes mayores sobre la distribución de los caracteres. Utilizaron dos métodos estadísticos (prueba de normalidad y la prueba de homogeneidad de varianzas intrafamiliar) similares a los usados en el presente estudio. Concluyeron que estos métodos pueden ser utilizados de manera sistemática, como primeros pasos para evidenciar la segregación de genes mayores en las poblaciones animales. Cuando los resultados de estas pruebas son positivos, entonces pueden ser confirmados y detallados por métodos más complicados como el análisis de segregación o métodos de genética molecular.

Si bien las distribuciones de frecuencia de la prolificidad de ambos machos no fueron tan sugerentes de la presencia de un gen mayor como las mostradas por los candidatos manchegos, es importante considerar que de existir un gen mayor, si éste se encuentra en baja frecuencia, sus efectos pueden ser enmascarados por la variación ambiental existente (Cemal y Karaca, 2002).

Desde el punto de vista estadístico (Ver tabla 3.3) ambos candidatos no difieren del resto de los machos de la población. No obstante creemos que, por presentar características muy diferentes a la del resto de los machos, sería importante genotipar ambos individuos a efectos de determinar si son portadores de alguno de los alelos de los genes mayores que hasta la actualidad se conocen.

3.2.- Población Murciano-granadina

Al aplicar el protocolo en esta población, se encontró que la mayoría de los machos presentaban gráficas de distribución de frecuencias de la prolificidad con dos o tres picos pero con un bajo número de hijas. La mayoría de los machos no superaban las 15 hijas de promedio. A este problema se sumó la escasa genealogía conocida, que complicó aún más el análisis de los parientes de cada macho. Así, estos dos factores, limitaron la extracción de conclusiones a nivel de individuo respecto de la existencia de un gen mayor. Sin embargo, durante la revisión de las gráficas, unos pocos machos presentaron distribuciones con un solo pico, lo que llamó nuestra atención. Se decidió entonces construir la gráfica de distribución de frecuencias para cada uno de los machos de la población e identificar aquellos que presentaban dos picos y los que solo presentaban uno. Se eligieron a los más representativos de cada grupo, en función del número de hijas. A los primeros, se les llamó arbitrariamente “prolíficos” y lo constituyen veintiséis machos. El segundo grupo se denominó “normales” y lo componen seis machos. Identificados los animales de cada grupo, se buscaron las hijas de éstos y se construyó la gráfica de distribución de frecuencias. Al comparar las distribuciones se observó que el grupo “normales” presentó una distribución esperable para el tipo de carácter, no así el grupo “prolíficos”, que presentó dos picos de similar frecuencia producidos en 1,6 y 2,0 (figura 3.16). Estas frecuencias máximas coinciden con

las presentes en la distribución de toda la población (Figura 3.1.2). Nos resulta extraño que un carácter de herencia poligénica presente una distribución bimodal y, a priori, nos insta a pensar que posiblemente pueda existir un factor genético de gran efecto afectando la prolificidad ya que si un gen tiene un efecto lo suficientemente grande, relativo al fondo genético y la variación ambiental, produce una distribución multimodal en una población segregante (Falconer y Mackay, 1996).

Los resultados estadísticos muestran que ambos grupos no difieren estadísticamente y sus coeficientes de correlación intraclase son bajos (Tabla 3.4), lo cual no concuerda con la gran diferencia que existe en la distribución de la prolificidad de los grupos.

Tabla 3.5. Resultados estadísticos y coeficientes de correlación intraclase en los grupos “Normales” y “Prolíficos” en raza caprina Murciano-granadina.

Individuo	n ¹	PROLF ¹	DS ¹	IC ¹	r _i ¹
Normales	394	1,66 a	0,57	[1,58 – 1,73]	0,027
Prolíficos	1.283	1,76 a	0,60	[1,71 – 1,80]	-0,004

¹n: número de registros de partos; **PROLF**: Prolificidad; **DS**: Desviación típica; ¹IC: Intervalo de confianza para la media al 99%; **r_i**: Coeficiente de correlación intraclase
Diferentes letras indican diferencias significativas (P<0,01)

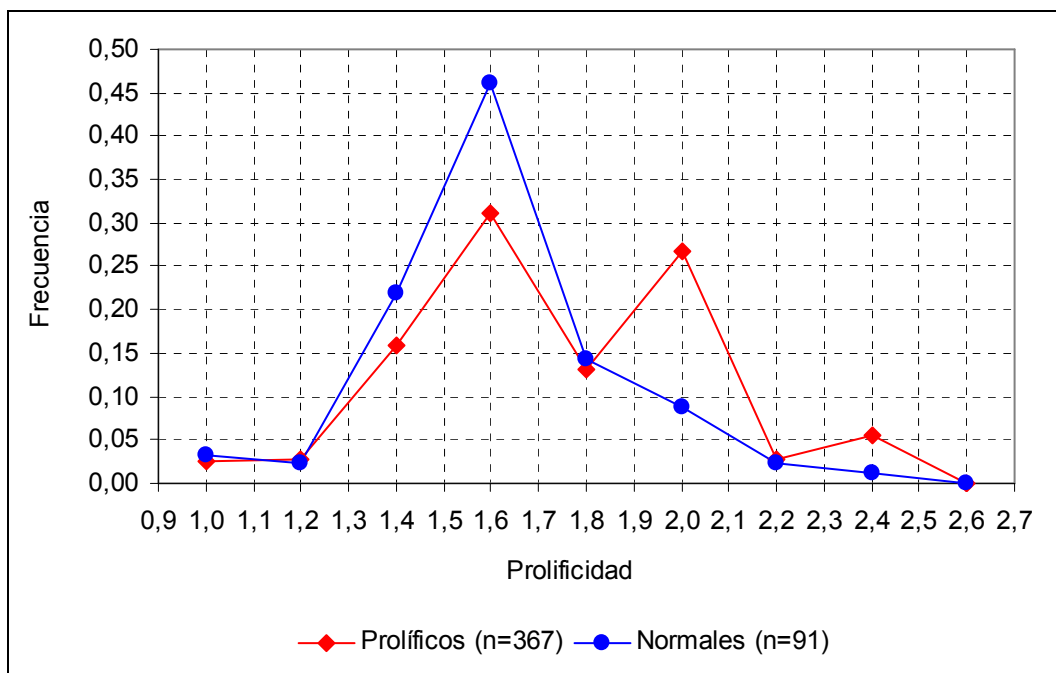


Figura 3.16. Distribución de frecuencias de la prolificidad media de machos prolíficos y normales en raza caprina Murciano-granadina.

Diversos estudios (Hua et al., 2008; Deldar-Tajangookkeh et al., 2009; He et al., 2010) han investigado en varias razas caprinas, si los alelos de los genes mayores que aumentan la prolificidad en ovinos están relacionados con la prolificidad en cabras. Se han revisado la mutación *FecB^B* del gen *BMPR-1B*,

los alelos $FecX^I$, $FecX^H$, $FecX^B$, $FecX^G$ del gen *BMP15* y el $FecG^H$ del gen *GDF9*. Ninguna de estas mutaciones se pudo asociar a la prolificidad en las poblaciones de caprinas utilizadas. Concluyen que es necesario buscar otros genes candidatos o loci, con el fin de desarrollar técnicas de selección asistida por marcadores (MAS) y, que es probable, que ovejas y cabras sigan mecanismos distintos para la regulación de la prolificidad. A éste respecto, los estudios de Wu et al. (2009) y He et al. (2010) han detectado asociaciones entre el tamaño de cama y polimorfismos del gen “Inhibina alfa” (*INH α*), en cabras Boer y razas chinas respectivamente, sin embargo, solo lo indican como un gen candidato para explicar la prolificidad de estas poblaciones.

En vista de lo observado en esta raza, sugerimos analizarla nuevamente, una vez que se cuente con un mayor número de registros de partos en las hijas de los machos identificados en este estudio. Los machos de cada grupo se encuentran identificados en la tabla 3.5 del anexo.

4.- CONCLUSIONES

De los resultados encontrados en este estudio se concluye lo siguiente:

1.- Se encontraron indicios de la posible existencia de un gen mayor en cinco machos de la raza ovina Manchega y dos de la raza ovina Navarra.

2.- Por sus características individuales y familiares relacionadas con la prolificidad, estos machos son considerados candidatos a poseer un gen mayor, y se sugiere su genotipado y/o el de alguno de los parientes que presentaron características similares, para determinar la presencia/ausencia de alguno de los alelos de los genes mayores que hasta la actualidad se han identificado.

3.- No se observaron señales de la transmisión característica de los genes ligados al sexo en ninguna de las razas analizadas.

4.- La raza de cabras Murciano-granadina mostró una distribución de frecuencias de la prolificidad que es característica de las poblaciones en donde segregan genes mayores. Debido al bajo número de hijas y a la escasa genealogía conocida, no se pudo encontrar indicios de la segregación de un gen mayor a nivel de individuo, pero si se pudieron distinguir dos grupos de machos que diferían claramente en sus distribuciones de la prolificidad, por lo que creemos recomendable analizar posteriormente estos machos a la espera de contar con un mayor número de hijas con registros de partos.

5.- No se encontraron candidatos en la población Rasa-aragonesa para genes diferentes al alelo *FecX^R*.

6.- Se sugiere analizar más adelante la población ovina Assaf cuando se cuente con un censo mayor de ovejas con tres o más registros de partos, ya que en el presente estudio se observaron machos muy prolíficos pero con un bajo número de hijas que cumplían dicha condición.

5.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amer, P.R., McEwan, J.C., Dodds, K.G. y Davis, G.H. 1999. Economic values for ewe prolificacy and lamb survival in New Zealand sheep. *Livest. Prod. Sci.* 58: 75-90.
- Baird, D.T. y Campbell, B.K. 1998. Follicle selection in sheep with breed differences in ovulation rate. *Mol. Cell. Endocrinol.* 145: 89-95.
- Blasco, A. 2011. La significación es irrelevante y los P-values engañosos. ¿Qué hacer?. *ITEA 107* (1): 48-58.
- Bradford, G.E. 1985. Selection for litter size. p.3-19. EN: Land, R.B. y Robinson, D.W. (Eds.). *Genetics of Reproduction in Sheep*. Butterworths, Londres, Inglaterra.
- Bodin, L., SanCristobal, M., Lecerf, F., Mulsant, P., Bibe, B., Lajous, D., Belloc, J.P., Eychenne, F., Amigues, Y. y Elsen, J.M. 2002. Segregation of a major gene influencing ovulation in progeny of Lacaune meat sheep. *Genet. Sel. Evol.* 34: 447-464.
- Bodin, L. 2006. Genes mayores en ganado ovino, implicaciones en la reproducción. *Revista Pequeños Ruminantes* 7 (3): 38-45.
- Bodin, L., Di Pasquale, E., Fabre, S., Bontoux, M., Monget, P., Persani, L. y Mulsant, P. 2007. A novel mutation in the bone morphogenetic protein 15 gene causing defective protein secretion is associated with both increased ovulation rate and sterility in Lacaune sheep. *Endocrinology* 148: 393-400.
- Cano-Ortiz, P., Ramón, M., Jurado, J.J., Serrano, M. y Pérez-Guzmán, M.D. 2009. Búsqueda de un gen de gran efecto para prolificidad en la raza Manchega. p. 93-95. EN: AIDA (Ed.). XIII Jornadas sobre Producción Animal. 12 y 13 de Mayo de 2009. Zaragoza, España.
- Cemal, I. 1996. Major Genes in Farm Animals: Their Identification, Transfer and Industry Utilization (In Turkish). 79 p. M.Sc. Thesis. Yuzuncu Yil University, Department of Animal Sciences. Van, Turkía.
- Cemal, I. y Karaca, O. 2002. Effects of mejor genes on the distribution of quantitative traits. EN: 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. 19-23 de Agosto de 2002. Montpellier, Francia (Comunicación N° 21-35).
- Davis, G.H. y Hinch, G.N. 1985. p.139-148. Introduction and management of the Booroola gene in sheep flocks in New Zealand. EN: Land, R.B. y Robinson, D.W. (Eds.). *Genetics of Reproduction in Sheep*. Butterworths, Londres, Inglaterra.
- Davis, G.H., McEwan, J.C., Fennessy, P.F., Dodds, K.G. y Farquhar, P.A. 1991. Evidence for the presence of a major gene influencing ovulation rate on the X-chromosome of sheep. *Biol. Reprod.* 44: 620-624.

- Davis, G.H., Elsen, J.M., Bodin, L., Fahmy, M.H., Castonguay, F., Gootwine, E., Bor, A., Braw-Tal, R., Lengyel, A. y Paszthy, G. 1991. A comparison of the production from Booroola and local sheep breed in different countries. EN: Elsen, J.M., Bodin, L., Thimonier, J. (Eds.). Major Genes for Reproduction in Sheep. INRA. Paris, France. pp. 315-323.
- Davis, G.H., Bruce, G.D. y Dodds, K.G. 2001. Ovulation rate and litter size of prolific Inverdale ($FecX^I$) and Hanna ($FecX^H$) sheep. Proc. Assoc. Adv. Anim. Breed. Genet. 14: 175–178.
- Davis, G.H., Dodds, K.G., Wheeler, R. y Jay, N.P. 2001. Evidence that an imprinted gene on the X chromosome increases ovulation rate in sheep, Biol. Reprod. 64: 216–221.
- Davis, G.H., Galloway, S.M., Ross, I.K., Gregan, S.M., Ward, J., Nimbkar, B.V., Ghalsasi, P.M., Nimbkar, C., Gray, G.D., Subandriyo, Inounu, I., Tiesnamurti, B., Martyniuk, E., Eythorsdottir, E., Mulsant, P., Lecerf, F., Hanrahan, J.P., Bradford, G.E. y Wilson, T. 2002. DNA tests in prolific sheep from eight countries provide new evidence on origin of the Booroola ($FecB$) mutation. Biol. Reprod. 66: 1869–1874.
- Davis, G.H. 2005. Major genes affecting ovulation rate in sheep. Genet. Sel. Evol. 37(Suppl 1): S11-S23.
- Deldar-Tajangokeh, H., Shahneh, A.Z., Zamiri, M.J., Daliri, M., Kohram, H. y Nejati-Javaremi, H. 2009. Study of BMP-15 gene polymorphism in Iranian goats. Afr. J. Biotechnol. 8 (13): 2929-2932.
- Di Pasquale, E., Beck-Peccoz, P. y Persani, L. 2004. Hypergonadotropic ovarian failure associated with an inherited mutation of human bone morphogenetic protein-15 (BMP15) gene. Am. J. Hum. Genet. 75: 106-111.
- Elvin, J.A., Clark, A.T., Wang, P., Wolfman, N.M. y Matzuk, M.M. 1999. Paracrine actions of growth differentiation factor-9 in the mammalian ovary. Mol. Endocrinol. 13: 1035-1048.
- Fabre, S., Pierre, A., Pisselet, C., Mulsant, P., Lecerf, F., Pohl, J., Monget, P. y Monniaux, D. 2003. The Booroola mutation in sheep is associated with an alteration of the bone morphogenetic protein receptor-IB functionality. J Endocrinology 177: 435-44.
- Fabre, S., Pierre, A., Mulsant, P., Bodin, L., Di Pasquale, E., Persani, L., Monget, P. y Monniaux, D. 2006. Regulation of ovulation rate in mammals: contribution of sheep genetic models. Reprod. Biol. Endocrinol. 4: 20.

- Fahmy, M.H. 1998. Zootechnical aspects of major genes in sheep production. EN: Van Arendonk, J.A.M. (Ed.). Book of Abstracts of the 49th Annual Meeting of the European Association for Animal Production. 24-27 de Agosto de 1998, Warsaw, Polonia.
- Falconer, D.S. y Mackay, T.F.C. 1996. Genética cuantitativa. Cuarta edición. ACRIBIA, S.A. Zaragoza, España.
- Falconer, D.S. y Mackay, T.F.C. 1996. *Loci* de caracteres cuantitativos. p.363-384. EN: Falconer, D.S. y Mackay, T.F.C. Genética cuantitativa. Cuarta edición. ACRIBIA, S.A. Zaragoza, España.
- Galloway, S.M., McNatty, K.P., Cambridge, L.M., Laitinen, M.P.E., Juengel, J.L., Jokiranta, T.S., McLaren, R.J., Luro, K., Dodds, K.G., Montgomery, G.W., Beattie, A.E., Davis, G.H. y Ritvos, O. 2000. Mutations in an oocyte-derived growth factor gene (BMP15) cause increased ovulation rate and infertility in a dosage-sensitive manner. *Nat. Genet.* 25: 279–283.
- Gotwine, E. 2009. Biological and economic consequences of introgressing the B allele of the FecB (Booroola) gene into Awassi and Assaf sheep. p. 119-127. EN: Walkden-Brown, S.W., Van der Werf, J.H.J, Nimbkar, C y Gupta, V.S. (Eds.). Use of the FecB (Booroola) gene in sheep breeding program. Maharashtra, India, 10 -12 de noviembre de 2008. Proceedings of the helen newton turner memorial international workshop held in pune, Maharashtra, India.
- Groeneveld, E., Kovač, M. y Mielenz, N. 2008. VCE User`s guide and reference manual. Version 6.0
- Gutiérrez, J.P. 2010. Iniciación a la valoración genética animal. Metodología adaptada al EEES. 89 p. Editorial Complutense. Madrid, España.
- Hanrahan, J.P., Gregan, S.M., Mulsant, P., Mullen, M., Davis, G.H., Powell, R. y Galloway, S. 2004. Mutations in the genes for oocyte derived growth factors GDF9 and BMP15 are associated with both increased ovulation rate and sterility in Cambridge and Belclare sheep (*Ovis aries*). *Biol. Reprod.* 70: 900–909.
- He, Y., Ma, X., Liu, X., Zhang, C. y Li, J. 2010. Candidate Genes Polymorphism and Its Association to Prolificacy in Chinese Goats. *J. Agr. Sci.* 2 (1): 88-92.
- Hua, G.H., Chen, S.L., Ai, J.T. y Yang, L.G. 2008. None of polymorphism of ovine fecundity major genes FecB and FecX was tested in goat. *Anim. Reprod. Sci.* 108; 279-286

Referencias Bibliográficas

- Joyce, I.M., Clark, A.T., Pendola, F.L. y Eppig, J.J. 2000. Comparison of recombinant growth differentiation factor-9 and oocyte regulation of KIT ligand messenger ribonucleic acid expression in mouse ovarian follicles. *Biol. Reprod.* 63: 1669-1675.
- Jurado, J.J., Hernández, D. y Serrano, M. 1991. Catálogo de software de interés en agricultura. Programa 248 BLUP-AM. p. 142. Fundesco, IRYDA, MAPA. España.
- Jurado, J.J. y Serrano, M. 1995. Genética cuantitativa: partición del fenotipo. p.93-108. EN: Buxadé, C. (Ed.). *Zootecnia: bases de producción animal*. Tomo IV. Genética, patología, higiene y residuos animales. Mundi Prensa. Madrid, España.
- Jurado, J.J. y Calvo, J.H. 2007. ¿Un gen de gran efecto para prolificidad en raza Raza-Aragonesa?. *ITEA* 28: 504-506.
- Jurado, J.J., Martínez-Royo, A. y Calvo, J.H. 2008. Efecto fenotípico del alelo BMP15/FecX^R en la prolificidad de la población de CarnesOviaragón S.C.L. *ITEA* 104 (2): 149-154.
- Le Roy, P. y Elsen, J.M. 1992. Simple test statistics for major gene detection: a numerical comparison. *Theor. Appl. Genet.* 83: 635-644.
- Le Roy, P. y Elsen, J.M. First statistical approaches of the major gene detection with special reference to discrete traits, EN: Elsen, J.M., Bodin, L. y Thimonier, J., Inra (Eds.). *Proceedings of the 2nd International Workshop on Major Genes for Reproduction in Sheep*. Toulouse, Francia. 16-18 de Julio de 1990. pp. 431-440.
- Lecerf, F., Mulsant, P., Elsen, J.M. y Bodin, L. 2002. Localisation and mapping of a major gene controlling ovulation rate in Lacaune sheep. p. 753-756. EN: *Proceedings of the 7th Congress on Genetics Applied to Livestock Production*. 19-23 de Agosto de 2002. Montpellier, Francia.
- Malher, X. y Le Chere, A.K. 1998. High prolificacy in Belle-Ile sheep (Brittany, France): major effects of a putative single gene and the Awh colour gene on ovulation rate and litter size. *Reprod. Nut. Dev.* 38: 473-484.
- Martínez-Royo, A., Jurado, J.J., Smulders, J.P., Martí, J.I., Alabart, J.L., Roche, A., Fantova, E., Bodin, L., Mulsant, P., Serrano, M., Folch, J. y Calvo, J.H. 2008. A deletion in the bone morphogenetic protein 15 gene causes sterility and increased prolificacy in Rasa Aragonesa sheep. *Anim. Genet.* 39: 294-297.
- Martyniuk, E. y Radomsa, M.J. 1991. A single gene for prolificacy in Olkuska sheep, EN: Elsen, J.M., Bodin, L. y Thimonier, J. (Eds.). *Major Genes for Reproduction in Sheep*. INRA. Paris, France. pp. 85-92.

- McNatty, K.P., Lun, S., Heath, D.A., Ball, K., Smith, P., Hudson, N.L., McDiarmid, J., Gibb, M. y Henderson, K.M. 1986. Differences in ovarian activity between Booroola Merino ewes which were homozygous, heterozygous and non-carriers of a major gene influencing their ovulation rate. *J. Reprod. Fertil.* 77: 193-205.
- McNatty, K.P., Juengel, J.L., Wilson, T., Galloway, S.M., Davis, G.H., Hudson, N.L., Moeller, C.L., Cranfield, M., Reader, K.L., Laitinen, M.P., Groome N.P., Sawyer, H.R. y Ritvos, O. 2003. Oocyte-derived growth factors and ovulation rate in sheep. *Reproduction* 61(Suppl): 339-351.
- McNatty, K.P., Galloway, S.M., Wilson, T., Smith, P., Hudson, N.L., O'Connell, A., Bibby, A.H., Heath, D.A., Davis, G.H., Hanrahan, J.P. y Juengel, J.L. 2005. Physiological effects of major genes affecting ovulation rate in sheep. *Genet. Sel. Evol.* 37(Suppl 1):S25-S38.
- McNatty, K.P., Juengel, J.L., Reader, K.L., Lun, S., Myllymaa, S., Lawrence, S.B., Western, A., Meerasahib, M.F., Mottershead, D.G., Groome, N.P., Ritvos, O. y Laitinen, M.P. 2005. Bone morphogenetic protein 15 and growth differentiation factor 9 co-operate to regulate granulosa cell function in ruminants. *Reproduction* 129: 481-487.
- Montaldo, H. y Meza-Herrera, C. 1998. Use of molecular markers and major genes in the genetic improvement of livestock. *Electronic Journal of Biotechnology* 1 (2). Disponible en: <http://www.ejbiotechnology.info/content/vol1/issue2/full/4/index.html>
- Montaldo, H. y Kinghorn, B. 2000. Detección y uso de genes mayores en animales. *Acta Universitaria* 10 (2): 9-17.
- Montgomery, G.W., McNatty, K.P. y Davis, G.H. 1992. Physiology and molecular genetics of mutations that increase ovulation rate in sheep. *Endocr. Rev.* 13: 309-328.
- Montgomery, G.W., Galloway, S.M., Davis, G.H. y McNatty K.P. 2001. Genes controlling ovulation rate in sheep. *Reproduction* 6: 843-852.
- Mulsant, P., Lecerf, F., Fabre, S., Schibler, L., Monget, P., Lanneluc, I., Pisselet, C., Riquet, J., Monniaux, D., Callebaut, I., Cribiu, E., Thimonier, J., Teyssier, J., Bodin, L., Cognie, Y. y Elsen, J.M. 2001. Mutation in bone morphogenetic protein receptor-1B is associated with increased ovulation rate in BooroolaMerino ewes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 5104–5109.
- Otsuka, F., Yao, Z., Lee, T., Yamamoto, S., Erickson, G.F. y Shimasaki, S. 2000. Bone morphogenetic protein-15. Identification of target cells and biological functions. *J. Biol. Chem.* 275: 39523-39528.

- Otsuka, F. y Shimasaki, S. 2002. A negative feedback system between oocyte bone morphogenetic protein 15 and granulosa cell kit ligand: its role in regulating granulosa cell mitosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99: 8060-8065.
- Pardos, L., Fantova, E., Bru, CH., Buñuel, M., Cuartielles, I. y Larraz, V. 2010. Influencia de la presencia del alelo ROA y de la selección por prolificidad poligénica en los resultados económicos de explotaciones ovinas de carne en Aragón. p.461-465. EN: XXXV Congreso de la sociedad española de ovinotecnia y caprinotecnia (SEOC). Valladolid, 22, 23 y 24 de Septiembre de 2010. Valladolid, España.
- Piper, L.R. y Bindon, B.M. 1982. The BooroolaMerino and the performance of medium non-peppin crosses at Armidale. p. 9-19. EN: Piper, L.R., Bindon, B.M. y Nethery, R.D. (Eds.). *The Booroola Merino, Workshop*, Armidale, Australia. 24-25 de Agosto de 1980. CSIRO, Armidale, Australia.
- Rhind, S.M., Gittus, G., Potts, J.M. y Bishop, S.C. 2000. Reproductive performance of the Thoka Cheviot sheep. *Proc. Brit. Soc. Anim. Sci.* p. 44.
- Shackell, G.H., Hudson, N.L., Heath, D.A., Lun, S., Shaw, L., Condell, L., Blay, L.R. y McNatty, K.P. 1993. Plasma gonadotropin concentrations and ovarian characteristics in Inverdale ewes that are heterozygous for a major gene (FecX^l) on the X chromosome that influences ovulation rate. *Biol. Reprod.* 48: 1150-1156.
- Smith, C. 1985. Utilization of major genes. p.151-158. EN: Land, R.B. y Robinson, D.W. (Eds.). *Genetics of Reproduction in Sheep*. Butterworths. Londres, Inglaterra.
- Sokal, R.R. y Rohlf, F.J. 1969. *Biometría. Principios y métodos estadísticos en la investigación*. H. Blue Ediciones. Madrid, España.
- Solovyeva, E.V., Hayashi, M., Margi, K., Barkats, C., Klein, C., Amsterdam, A., Hsueh, A.J. y Tsafiri, A. 2000. Growth differentiation factor-9 stimulates rat theca-interstitial cell androgen biosynthesis. *Biol. Reprod.* 63: 1214-1218.
- Souza, C.J., MacDougall, I C., Campbell, B.K., McNeilly, A.S. y Baird, D.T. 2001. The Booroola (FecB) phenotype is associated with a mutation in the bone morphogenetic receptor type 1 B (BMPRI1B) gene. *J. Endocrinol.* 169: R1-R6.
- Souza, C.J.H., Gonzales-Bulnes, A, Campbell, B.K., McNeilly, A.S. y Baird, D.T. 2004. Mechanisms of action of the principal prolific genes and their application to sheep production. *Reproduction, Fertility and Development* 16: 395-401.

Referencias Bibliográficas

- Swan, A. 2009. The economics of litter size in meat sheep. p. 170-176. EN: Walkden-Brown, S.W., Van der Werf, J.H.J, Nimbkar, C y Gupta, V.S. (Eds.). Use of the FecB (Booroola) gene in sheep breeding program. Maharashtra, India, 10-12 de noviembre de 2008. Proceedings of the helen newton turner memorial international workshop held in pune, Maharashtra, India.
- Vitt, U.A., Hayashi, M., Klein, C. y Hsueh, A.J. 2000. Growth differentiation factor-9 stimulates proliferation but suppresses the folliclestimulating hormone-induced differentiation of cultured granulosa cells from small antral and preovulatory rat follicles. *Biol. Reprod.* 62: 370-377.
- Wilson, T., Wu, Xi-Yang, Juengel, J.L., Ross, I.K., Lumsden, J.M., Lord, E.A., Dodds, K.G., Walling, G.A., McEwan, J.C., O'Connell, A.R., McNatty, K.P. y Montgomery, G.W. 2001. Highly prolific Booroola sheep have a mutation in the intracellular kinase domain of bone morphogenetic protein IB receptor (ALK- 6) that is expressed in both oocytes and granulosa cells. *Biol. Reprod.* 64: 1225-1235.
- Wu, W.S., Hua, G.H., Yang, L.G., Wen, Q.Y., Zhang, C.Y. y KhairyMZand Chen, S.L. 2009. Association analysis of the INH α gene with litter size in Boer goats. *Small Rum. Res.* 82:139-143.

ANEXO

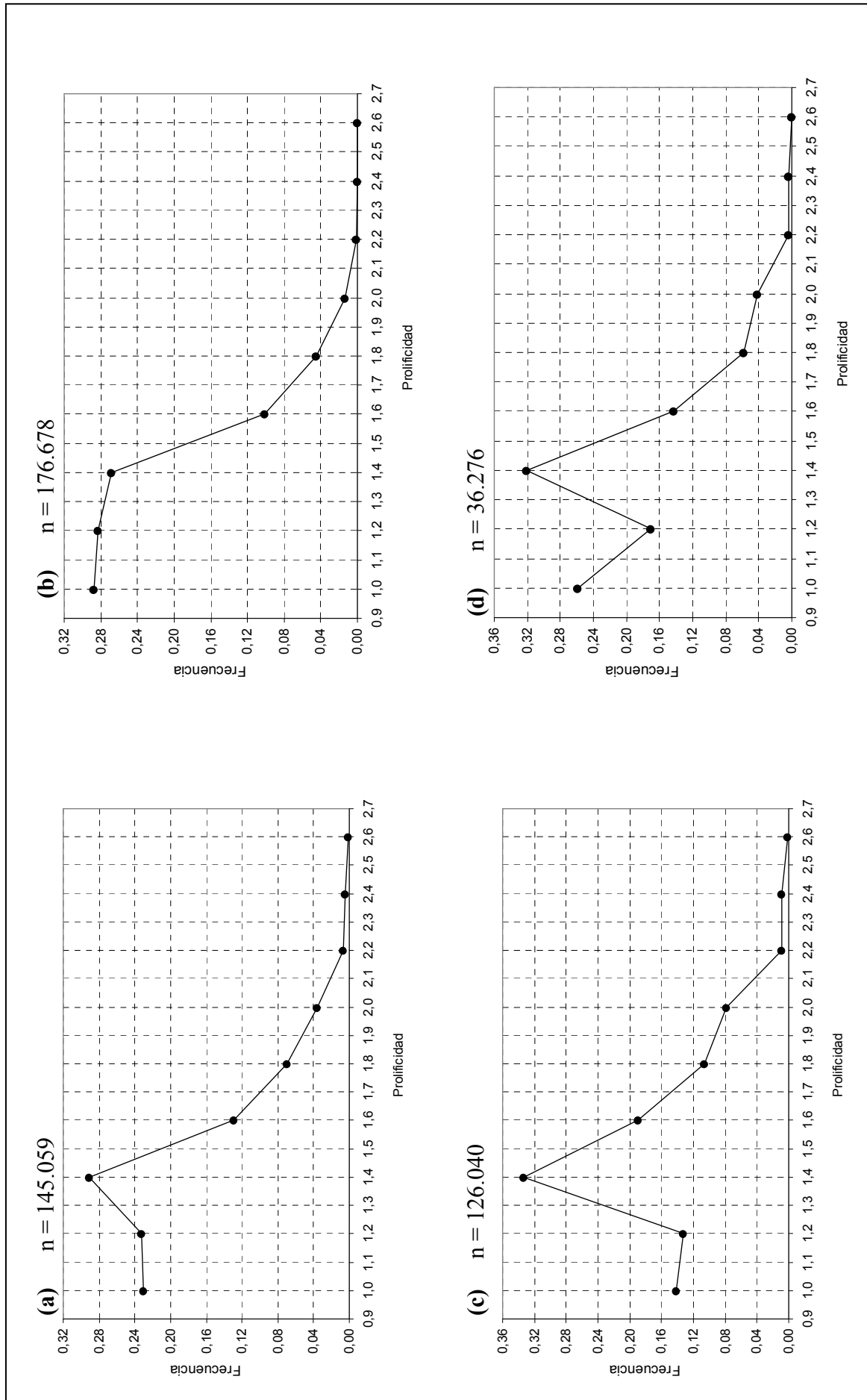


Figura 3.1.1. Distribución de frecuencias de la prolificidad en las poblaciones estudiadas. **(a)** Rasa-aragonesa; **(b)** Navarra; **(c)** Mancha; **(d)** Assaf.

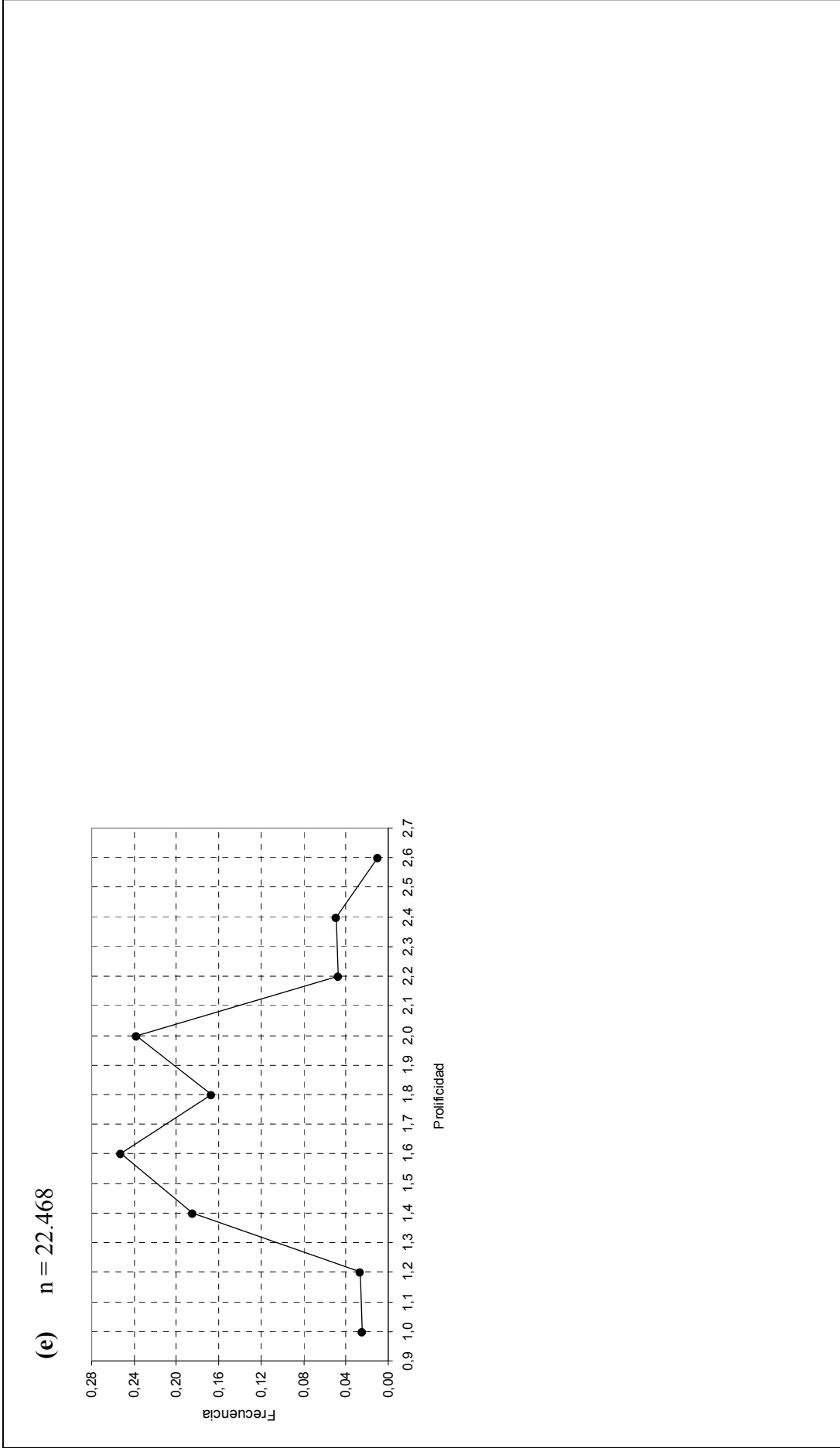


Figura 3.1.2. Distribución de frecuencias de la prolificidad en las poblaciones estudiadas. (e) Murciano-granadina

Tabla 3.6. Identificación e información de los machos pertenecientes a los grupos formados en función de su prolificidad en raza Murciano-granadina.

NORMALES			PROLIFICOS		
Individuo	PROLF ¹	VG ¹	Individuo	PROLF ¹	VG ¹
NS02022	1,70	1,0421	TT02090	1,62	2,7006
JYJ02015	1,73	0,3815	DAA01010	1,73	2,6268
NS00032	1,59	0,0309	NS02028	1,76	2,3263
TT00113	1,65	- 0,9000	SG00084	1,81	2,1572
AEV96087	1,72	-2,0358	TT01112	1,70	1,9204
WS02067	1,37	- 2,4251	ADY00075	1,72	1,4908
			PZ02041	1,77	0,8251
			EAH02029	1,79	0,7554
			PZ98083	1,74	0,6389
			PAA04187	1,88	0,6104
			WS02068	1,75	0,5291
			MAF00006	1,55	0,5123
			JYJ03228	1,77	0,4179
			ADY02056	1,83	0,3878
			MAA01136	1,74	0,3215
			JMP99090	1,81	0,2680
			WS01100	1,73	0,1580
			AEV02061	1,79	0,0581
			JYJ03227	1,78	0,0296
			JYJ02025	1,71	-0,0671
			JMP00163	1,74	-0,1125
			HAI01052	1,92	-0,1167
			ADY01007	1,74	-0,2300
			GSM02040	1,88	-0,5666
			HAI99100	1,81	-1,9141
			AEV02225	1,70	-2,2242

¹ **VG:** Valor genético; **PROLF:** Prolificidad

