UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Polimorfismo de nucleótido simple (SNP) de los genes BMPRIB, BMP15 y GDF9 asociados a prolificidad en hembras de cuatro razas ovinas (Ovis aries) del Centro Agropecuario Marengo

Gonzalo Alexander Cuéllar Gamboa

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia
Departamento de ciencias para la producción animal
Bogotá, Colombia
2017

Polimorfismo de nucleótido simple (SNP) de los genes BMPRIB, BMP15 y GDF9 asociados a prolificidad en hembras de cuatro razas ovinas (Ovis aries) del Centro Agropecuario Marengo

Gonzalo Alexander Cuéllar Gamboa

Trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:

Magister en producción animal

Directora:

Liga Mercedes Jiménez Robayo

Médica Veterinaria, Msc., Ph.D

Línea de Investigación:

Genética y mejoramiento animal

Grupo de Investigación:

Grupo de investigación en genética animal (GIGA)

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia

Departamento de ciencias para la producción animal

Bogotá, Colombia

2017

The nitrogen in our DNA, the calcium in our teeth, the iron in our blood, the carbon in our apple pies were made in the interiors of collapsing stars. We are made of starstuff.

Carl Sagan

Agradecimientos

Agradecemos a Colciencias por la financiación otorgada para el desarrollo del proyecto ***"Caracterización e identificación genética de ovinos adaptados al trópico colombiano mediante la estandarización y aplicación de genotipificación y secuenciación automatizada en la facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la UNAL sede Bogotá"****.*

A la unidad de Citogenética y Genotipificación de Animales Domésticos UGA de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia, dónde se desarrolló la presente investigación. Adicionalmente al fondo de investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia y al programa de fortalecimiento de grupos de investigación de la DIB de la Universidad Nacional de Colombia por los aportes económicos otorgados. A la Secretaría de Posgrado por las gestiones desarrolladas.

Agradezco al Grupo de Investigación en Genética Animal GIGA de la Dra. Ligia Mercedes Jiménez, a mis compañeros y amigos de laboratorio Andrea Piza, Paula Esquinas y Luisa Triana, a Joel Leal por su paciencia y sus constantes enseñanzas, a Luisa Mendoza por su apoyo incondicional y motivación constante y a mi tutora la doctora Ligia Jiménez por su paciencia y enseñanzas. A todos ellos porque no solo me enseñaron a crecer en el ámbito profesional sino en el personal

Agradezco a mi familia y núcleo familiar, Alicia, Andrea, Patricia, Mauricio, Daniel y Álvaro, quienes siempre han estado apoyándome y por quienes soy lo que soy y seré. A mi gran motivadora Cristina Gamboa, mi madre, quien me apoya en todo aspecto. A mis hermanas Dana y Anamaría a las que siempre intentaré darles buen ejemplo.

Finalmente agradezco a la profesora Nhora Martínez a quien desde que la conocí admiro bastante, a ella y al doctor Carlos Alberto Martínez por sus charlas y asesorías estadísticas.

Resumen

La prolificidad es el resultado de un proceso fisiológico complejo que se encuentra modulado por factores ambientales, factores neuroendocrinos y factores genéticos que constantemente interactúan sobre el animal. Es un proceso importante desde el punto de vista productivo, siendo la base de la rentabilidad de los sistemas ovinos. Los genes mayores con efecto sobre la reproducción vienen siendo analizados desde hace varios años para poder utilizarlos en el mejoramiento animal. El objetivo de este trabajo fue determinar factores que influencian la prolificidad, estimar los parámetros genéticos y determinar la presencia de polimorfismos de nucleótido simple (SNP) de los genes BMPR1B, BMP15 y GDF9, Además de evaluar su asociación al parámetro prolificidad en hembras de las razas Romney Marsh, Corridale, Hampshire y Criolla ubicadas en el Centro Agropecuario Marengo de la Universidad Nacional de Colombia (CAM-UN). La tendencia observada es que a medida que la hembra tiene más partos, su prolificidad aumenta. La raza Hampshire presentó el mayor valor de prolificidad bajo las condiciones del CAM. Los valores de prolificidad encontrados en la raza Criolla, destacan su buena adaptabilidad reproductiva. La heredabilidad de la característica prolificidad encontrada en las ovejas del CAM fue 0.244 ± 0.04. El valor de repetibilidad encontrado para la característica Prolificidad en las ovejas del CAM fue 0.270 ± 0.05. En la población de hembras del CAM se pudieron identificar animales portadores del SNP que corresponde a la mutación Booroola. El número de parto no tuvo efecto sobre la característica de prolificidad de las hembras del CAM evaluadas en el presente estudio. Las hembras de la raza Hampshire tienen 11 veces más probabilidad de tener un parto doble que las hembras de la raza Criolla analizadas en este estudio. Los SNPs rs426338048 del gen BMPR1B, rs160076413 y rs422644056 ubicados en el gen GDF9 tienen efecto ($p<.0001$, $p=0.0015$ y $p=0.0117$ respectivamente) sobre la característica prolificidad en las hembras del CAM evaluadas en el presente estudio. Los resultados de este trabajo, si bien pueden considerarse preliminares, aportan información de base para la gestión genética de esta población.

Palabras clave: (Reproducción, número de crías, parto, asociación, producción ovina, mejoramiento, genética).

Abstract

The prolificacy is the result of a complex physiological process that is modulated by environmental factors, neuroendocrine factors and genetic factors that constantly interact on the animal. It is an important process from the productive point of view, being the base of the profitability of the sheep systems. Major genes with effect on reproduction have been analyzed for several years to be used in animal breeding. The objective of this work was to determine factors that influence the prolificacy, estimate the genetic parameters and determine the presence of simple nucleotide polymorphisms (SNP) of the BMPR1B, BMP15 and GDF9 genes, besides evaluating their association to the prolificacy parameter in females of the breeds Romney Marsh, Corridale, Hampshire and Criolla located in the Marengo Agricultural Center of the National University of Colombia (CAM-UN). The observed tendency is that as the female has more births, its prolificacy increases. The Hampshire breed presented the highest prolificacy value under CAM conditions. The values of prolificacy found in the Creole breed, highlight its good reproductive adaptability. The heritability of the characteristic prolificacy found in the sheep of the CAM was 0.244 ± 0.04. The repeatability value found for the characteristic prolificity in the ewes of the CAM was 0.270 ± 0.05. In the population of females of the CAM, it was possible to identify animals carrying the SNP that corresponds to the Booroola mutation. The number of births had no effect on the prolificacy characteristic of CAM females evaluated in the present study. The females of the Hampshire breed are 11 times more likely to have a double birth than the females of the Creole breed analyzed in this study. The SNPs rs426338048 of the gene BMPR1B, rs160076413 and rs422644056 located in the GDF9 gene have an effect ($p < .0001$, $p = 0.0015$ and $p = 0.0117$ respectively) on the characteristic prolificacy in the CAM females evaluated in the present study. The results of this work, although they may be considered preliminary, provide basic information for the genetic management of this population.

Keywords: Reproduction, number of offspring, parturition, association, sheep production, breeding, genetics

Contenido

1. Estado del arte.....5
1.1 Aspectos de la reproducción ovina..... 5
1.1.1 Eje hipotálamo-hipófisis-ovario 6
1.1.2 Periodicidad en ovejas maduras sexualmente 8
1.1.3 Foliculogénesis y función lútea en ovejas 8
1.1.4 Patron de desarrollo antral folicular en la oveja 10
1.1.5 Luteogénesis, ciclo medio, función lútea y regresión del cuerpo lúteo 12
1.1.6 Perfiles hormonales durante el ciclo estral de la oveja.....13
1.2 Prolificidad..... 14
1.2.1 El sistema de la proteína morfogénica ósea 18
1.2.2 Gen BMPR-1B 19
1.2.3 Gen BMP15 22
1.2.4 Gen GDF9 26
1.2.5 Otros Genes 29
1.3 Conclusiones..... 30
1.4 Bibliografía 31

2. Factores que influencian la prolificidad y estimación de parámetros genéticos en ovejas del Centro Agropecuario Marengo (CAM) 45
2.1 Introducción..... 45
2.2 Materiales y métodos 48
2.3 Resultados y discusión..... 49
2.3.1 Parámetros genéticos 52
2.4 Conclusiones y recomendaciones 54
2.5 Bibliografía 56

3. Asociación de SNPs ubicados en los genes BMPR1B, BMP15 y GF9 en 4 razas del trópico alto colombiano.....61
3.1 Introducción..... 61
3.2 Materiales y métodos 63
3.2.1 Población, toma de muestras y extracción de ADN 63
3.2.2 Marcadores utilizaos 63
3.2.3 Estandarización manual de la amplificación.....64
3.2.4 Genotipificación por HRM 66
3.2.5 Genotipificación de marcadores.....68
3.2.6 Secuenciación y edición de secuencias 69
3.2.7 Análisis estadistico 69
3.3 Resultados 71
3.4 Discusión 73

3.4.1 Gen BMPR1B 73
3.4.2 Gen BMP15 74
3.4.3 Gen GDF9 74
3.5 Conclusiones 75
3.6 Bibliografía 77

4. Discusión 83

5. Conclusiones y recomendaciones 88

Pág.

Lista de imágenes

Pág.

Figura 3-1: Gel de poliacrilamida indicando la verificación de los tamaños de los amplicones. En orden se observa, 1. Marcador de peso, 2. BMPR15-2, 3. BMPR15-3, 4. GDF9-1, 5. GDF9-3 y 6. BMPR15-7. 65
Figura 3-2: Gel de poliacrilamida indicando la verificación de los tamaños del amplicones. En orden se observa, 1. Marcador de peso, 2. GDF9-5¸3. GDF9-4 y 4. BMPR15-4. 65
Figura 3-3: Protocolo base empleado para la genotipificación mediante HRM. 66
Figura 3-4: Multiplex con curvas de amplificación diferente para cada amplicon HRM 67

Lista de tablas

Pág.

Tabla 1-1: Polimorfismos tipo SNP reportados en el gen GDF9 en ovejas (Ovis aries)]. 28
Tabla 2-1: Prolificidad promedio con respecto al número de parto. 50
Tabla 2-2: Prolificidad promedio con respecto a la raza. 51
Tabla 2-3: Componentes de varianza estimados para la característica prolificidad en las ovejas del CAM. 52
Tabla 2-4: Valores de heredabilidad (h^2) y repetibilidad (r) estimadas para la característica prolificidad de las ovejas del CAM. 53
Tabla 3-1: Componentes de varianza estimados para la característica prolificidad en las ovejas del CAM. 64
Tabla 3-2: Tamaños de los amplicones según marcador y condiciones de estandarización. 64
Tabla 3-3: Condiciones del protocolo base empleado para HRM-PCR. 67
Tabla 3-4: Información de los SNPs utilizados en el presente trabajo. 68
Tabla 3-5: Frecuencias alélicas y genotípicas por SNP 70
Tabla 3-6: Probabilidades de Chi cuadrado para validar la significancia de cada beta 71
Tabla 3-7: Comparaciones 71
Tabla 3-8: Razón de probabilidad (odds ratio) 72

Lista de Símbolos y abreviaturas

Símbolo	Término
BMP15	*proteína morfogenética ósea 15*
BMPR1B	*receptor de la proteína morfogenética ósea tipo IB*
CAM	*Centro Agropecuario Marengo*
CL	*Cuerpo Luteo*
COR	*Corriedale*
CRI	*Criolla*
FSH	*Hormona Foliculo Estimulante*
GDF9	*factor de diferenciación del crecimiento 9*
GnRH	*Hormona Liberadora de Gonadotropinas*
h^2	*Heredabilidad*
HAM	*Hampshire*
HRM	*High Resolution Melting*
LH	*Hormona Luteinizante*
PCR	*Reacción en Cadena de la Polimerasa*
PGF2α	*Prostaglandina*
r	*Repetibilidad*
ROM	*Romney*
SNP	*Polimorfismo de nuceótido simple*
TO	*Tasa de Ovulación*

Introducción

La situación actual de la cría de ovejas y cabras en el mundo es, obviamente, el resultado de numerosos eventos históricos de naturaleza agro-climática, geopolítica y socio-económica. Este tradicional sector ha desempeñado un papel cultural importante en la historia de las civilizaciones, lo que además explica el vínculo cercano que existe entre los pequeños rumiantes y los humanos y la razón de que sean un factor determinante en la forma de vida de la mayoría de comunidades rurales alrededor del mundo (Morand-Fehr & Boyazoglu, 1999). Adicionalmente, a nivel del trópico se destaca la importancia de los ovinos criollos como un recurso genético importante. Sin embargo, es poca la información existente acerca de su manejo productivo además de que se encuentran amenazados por las prácticas continuas de cruzamiento con razas foráneas e introducidas, siendo poblaciones no seleccionadas que corren peligro de sufrir erosión genética por la manera en que son cruzadas, lo que les coloca en riesgo para la implementación de programas de conservación (Montes, Moreno, Hurtado, & Ramirez, 2013).

Los ovinos, en general, se caracterizan porque son capaces de consumir plantas arbustivas y vegetación variada (Morand-Fehr et al., 2004), por lo que pueden ser explotados en un amplio rango de zonas agroecológicas y diversos sistemas de manejo (Peacock, 2008). Además, tienen una increíble capacidad de adaptación a las condiciones adversas, tales como las temperaturas extremas, las situaciones de subalimentación, los distintos niveles de altitud e incluso tienen una gran capacidad para caminar largas distancias y sobrevivir a sequías (González, Grajales, Manrique, & Téllez, 2011; Morand-Fehr et al., 2004; Peacock, 2008).

Durante los últimos años, la cría de los pequeños rumiantes en los países en desarrollo, como Colombia, se ha extendido a áreas donde son importantes la producción de subsistencia, la economía de trueque o la cultura comunitaria, rodeadas de comercios y economías de mercado limitados en organización, infraestructura y eficiencia. Por todo ello, la producción de ovejas y cabras juega un papel cada vez más importante en

mercados de vecindad, mercados de regateo, sistemas de pequeños productores, productores de subsistencia y producción urbana o periurbana (González et al., 2011).

Los criadores de ovejas y cabras con frecuencia se encuentran ubicados en una posición relativamente baja de la escala social y en muchos países están entre aquellos que no se benefician de los programas de ayuda estatal o de servicios de extensión (Boyazoglu, Hatziminaoglou, Morand-Fehr, & Casey, 2005; Peacock, 2008). Esto evidencia la falta de ayuda y fomento gubernamental hacia la cadena de producción de los pequeños rumiantes, a lo que se le adiciona que la cadena de producción/consumo de la ovino-caprinocultura tanto en Colombia como en otros países se encuentre débilmente organizada (González et al., 2011).

El sistema de producción ovina en Colombia presenta un elevado potencial debido a que ha estado ligado históricamente a tradiciones culturales en diferentes regiones del país, lo que en los últimos años ha despertado un gran interés para el mejoramiento del mismo (Parra, Magaña, Duarte, & Téllez, 2015). Sin embargo, el desarrollo tecnológico de la producción ovina en Colombia ha sido de bajo nivel, reflejado en la poca aplicación de nuevas metodologías y técnicas en áreas como la genética, en la que las investigaciones han sido limitadas al conocimiento de la capacidad productiva y a su utilización en cruzamientos (Martinez & Malagón, 2005; Montes et al., 2013). En Colombia existen diferentes razas ovinas ancestralmente importadas y adaptadas por lo que posee razas de pelo como Peliguey, Kathadin y Dorper en climas cálidos y. razas de lana como Hampshire, Suffolk, Dorset, Romanov, Corriedale y Romney Marsh, en climas fríos (González et al., 2011).

Por esta razón, se hace necesario estimular la aplicación de nuevos conceptos emergentes como el impacto ecológico, el bienestar animal y la sostenibilidad de los sistemas, así como tener en cuenta la buena utilización y la conservación genética de los recursos locales adaptados.

A menor grado de especialización, en las producciones ovinas se utilizan con menor frecuencia herramientas de planeación estratégica y sistemas de identificación y registro de animales. El bajo control administrativo de los sistemas ovinos de trópico alto en Colombia demuestra la necesidad de implementar programas de asistencia técnica, investigación y extensión, donde los productores desarrollen habilidades para la proyección de indicadores de gestión y mercado (Moreno & Grajales, 2014).

La eficiencia biológica en ovejas con respecto a la producción de leche, carne y lana está condicionada por la fertilidad (Notter, 2000) por lo que sería importante incrementar la

eficiencia reproductiva de los sistemas ovinos. El mantenimiento de altos niveles de fertilidad (definido como el porcentaje de hembras que paren) y altos niveles de fecundidad son críticos para una producción ovina eficiente. Sin embargo, el nivel óptimo de fecundidad en la mayoría de los casos está muy por debajo del nivel máximo alcanzable (Notter, 2008).

Los avances en genética molecular han permitido la identificación de marcadores genéticos asociados con regiones génicas que afectan características de interés en animales de producción, incluyendo características monogénicas y QTL (Quantitative Traits Loci) o regiones genómicas que afectan características cuantitativas, los cuales han permitido el incremento de la respuesta a la selección, en particular para características que son difíciles de mejorar con la selección convencional o características cuya medición fenotípica es difícil, costosa o que solo pueden ser evaluadas en animales adultos o en estado post-mortem (Martínez Royo, 2011).

La característica de prolificidad y en general las características reproductivas se caracterizan por tener bajas heredabilidades y ser sensibles a efectos genéticos no aditivos, por lo que la aplicación de métodos tradicionales de mejoramiento, basados en datos fenotípicos es un proceso que consume mucho tiempo. Entonces, la genética molecular y la selección asistida por marcadores tienen una alta importancia en el mejoramiento genético de la eficiencia reproductiva (Abdoli, Zamani, Deljou, & Rezvan, 2013; Davis, Mcewan, Fennessy, Dodds, & Farquhar, 1991). Por ello, los genes mayores conocidos hasta ahora, se han utilizado de varias maneras para aumentar la productividad de las producciones, usando continuamente animales portadores para aumentar la frecuencia de los mismos dentro de los rebaños (Muñoz & Jurado, 2012).

La caracterización de los genes mayores asociados a fecundidad y por ende de la mano con la reproducción, pueden mejorar notoriamente la repuesta a programas de mejoramiento en ovinos. Por todo ello es importante desarrollar estudios que permitan la identificación de genes, variantes alélicas y polimorfismos asociados a prolificidad en la población ovina nacional con el fin de incrementar la productividad del sistema productivo.

El objetivo del presente trabajo fue determinar la presencia de polimorfismos de nucleótido simple (SNP) de los genes BMPR1B, BMP15 y GDF9 y evaluar su asociación al parámetro prolificidad en hembras de las razas Romney Marsh, Corridale, Hampshire y Criolla ubicadas en el Centro Agropecuario Marengo de la Universidad Nacional de Colombia (CAM-UN).

1. Estado del arte

En esta sección se encuentran las generalidades y aspectos importantes de la reproducción ovina, la importancia de la prolificidad como parámetro zootécnico y de mejora, el sistema de proteínas morfogénicas oseas y finalmente los genes mayores asociados a la prolificidad ovina en diferentes razas de algunos países donde se referencia a los polimorfismos que se han encontrado asociados a esta característica.

1.1 Aspectos de la reproducción ovina

Toda La actividad reproductiva en ovinos está influenciada por la estación del año teniendo al fotoperiodo como el factor clave en la sincronización del ciclo reproductivo, generando el ciclo ovárico y testicular (Ali & Hayder, 2008; Dickson & Sanford, 2005; Fourie, Schwalbach, Neser, & Van der Westhuizen, 2004). La ausencia de actividad ovárica es la consecuencia del anestro estacional la cual está acompañada de una reducción en calidad seminal de los machos, ambos siendo factores limitantes de la eficiencia reproductiva (Zamiri, Khalili, Jafaroghli, & Farshad, 2010).

El efecto del fotoperiodo sobre las razas ovinas con reproducción estacional depende principalmente de la latitud geográfica (Lozano, 2015). Sin embargo, en ambientes tropicales y subtropicales, algunas razas han reportado no tener un efecto estacional en la reproducción (Aguirre, Orihuela, & Vásquez, 2007; Rosa & Bryant, 2003).Algunos autores argumentan que los animales explotados en países tropicales no tienen un ciclo reproductivo y poseen la habilidad de concebir a lo largo de todo el año. Colombia al pertenecer a la región tropical no genera disminuciones en la longitud del día y no se considera un país de estaciones. En consecuencia, los cambios en el fotoperiodo no son

evidentes a lo largo del año, de esta manera los animales son capaces de concebir durante todo el año (Lozano, 2015).

En los últimos años los productores han buscado superar los indicadores de productividad de sus rebaños a través de cambios tecnológicos, destacándose la introducción de tipos raciales especializados, construcción de corrales y el suministro de alimentos balanceados. Sin embargo, la implementación limitada de tecnologías y biotecnologías se ha debido al escaso personal capacitado y al elevado costo de los procedimientos para su aplicación (Parra et al., 2015).La fertilidad en las hembras está influenciada en gran medida por la tasa ovulatoria (TO), definida como el número de ovocitos liberados durante un ciclo reproductivo; estos responden a su vez a un complejo intercambio de señales endocrinas entre la glándula pituitaria y el ovario, asociadas a señales paracrinas y autocrinas, así como a factores de señalización en las células foliculares, el ovocito y las células somáticas adyacentes (Palomera & Alonso, 2014) .

Los folículos primordiales, disponibles durante toda la vida reproductiva de una hembra, no se encuentran estáticos en el ovario, sino que dependen de la expresión de cientos de genes que se encargan de mantener la maquinaria y las funciones de señalización de los folículos (Scaramuzzi et al., 1993). En esta etapa son sensibles a la acción de factores de crecimiento como BMP15 y GDF9 producidos por el ovocito (McNatty et al., 2004) y determinan el número de folículos para ovular (Viñoles, 2011). La foliculogénesis es un proceso lento que comienza 120 días antes de la ovulación e involucra el pasaje de los folículos por 5 estadios de desarrollo: primordiales, primarios, sensibles a las gonadotropinas, dependientes de las gonadotropinas y folículos ovulatorios (Scaramuzzi et al., 1993).

1.1.1 Eje hipotálamo-hipófisis-ovario

La actividad gonadal está bajo el control del hipotálamo y de la pituitaria anterior (adenohipófisis). El hipotálamo es una pequeña estructura en la región central del cerebro. Tiene grupos de neuronas colectivamente llamadas núcleos que secretan hormonas peptídicas importantes para el control de la actividad pituitaria (Cunningham, 2003).

Alrededor de estas hormonas existen factores de liberación como parte de un mecanismo de hormonas neuroendocrinas sintetizadas por el tejido nervioso y suministradas al sistema portal de la glándula pituitaria hipotalámica para ser transportadas a la hipófisis anterior o adenohipófisis (Clarke, 2011). La hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) es el principal factor de liberación en la reproducción y es producido por las neuronas que residen en el hipotálamo; su producción es crítica para la regulación de los gametos y la producción de hormona esteroide sexual por los ovarios y los testículos. La mayoría de las neuronas GnRH de las ovejas se encuentran en el área preóptica del hipotálamo (50%) (Ciechanowska et al., 2008; Cox et al., 2012).

Los axones transportan la GnRH desde el hipotálamo al sistema portal hacia la adenohipófisis para estimular la secreción de gonadotropinas (Micevych, Bondar, & Kuo, 2010). El patrón principal de secreción de gonadotropinas es pulsátil y es impulsado por la secreción de GnRH; este sistema generador de impulsos para la secreción de gonadotropinas se incrementa durante la fase folicular y disminuye durante la fase luteal del ciclo estral. En general, el estrógeno (E2) disminuye la amplitud del pulso y la progesterona (P4) disminuye la frecuencia del pulso de la secreción de gonadotropinas (Cunningham, 2003).

La adenohipófisis produce hormonas proteicas que son importantes para el control de la reproducción: dos gonadotropinas, folículo estimulante (FSH) y luteinizante (LH), otras hormonas como prolactina (PRL), hormona del crecimiento (GH) y estimulante de la tiroides (TSH) siendo bien entendido que la GnRH regula la liberación de LH y FSH (Roa & Tena-Sempere, 2007). Los cambios en la frecuencia de pulso GnRH pueden regular selectivamente la producción de FSH y LH con frecuencias más lentas de GnRH, observadas durante la fase lútea de un ciclo estral; esto puede explicar las mayores concentraciones basales de FSH antes de los picos de GnRH durante la fase lútea del ciclo estral que induce ondas foliculares (Toosi et al., 2010).Hay una gran variedad de hormonas producidas por el hipotálamo y el ovario o testículo que afectan la secreción de gonadotropinas en la pituitaria. Una de ellas es la inhibina, con estas hormonas inhibidoras es posible ver una interacción compleja entre la frecuencia del pulso hipotalámico de GnRH y el ambiente paracrino, para determinar cantidades de proteínas reguladoras de FSH dentro de la hipófisis (Clarke, 2011; Smith & Clarke, 2010).

1.1.2 Periodicidad en ovejas maduras sexualmente

Los patrones de actividad reproductiva en ovejas adultas no preñadas están dominados por dos ritmos distintos; El primero de ellos es un ciclo estral de 16 -17 días y el segundo, presente en ovejas manejadas en países de estaciones, es un ritmo anual de ciclicidad ovárica de suspensión (anestro) dependiente de la estación y la restauración de los ciclos ovulatorios (periodo de reproducción) (Rawlings & Bartlewski, 2007). Existen reportes de la duración del ciclo en ovejas criollas colombianas de 16.13 ± 0.45 días (Rodriguez 1996), en contraste con otros reportes de 17.13 ± 3.54 días para la misma raza en la Sabana de Bogotá (Suarez Rodríguez 1993). Adicionalmente en otros grupos de estudio se observó un promedio de 17.3 días (Osorio y Lopez 1993). La duración del ciclo estral ovino es notablemente constante a través de las diferentes épocas, solo existen pequeñas diferencias entre las diferentes razas ovinas y un pequeño efecto de la edad, que usualmente no es superiore a 1 día, (Bartlewski et al., 2011).

1.1.3 Foliculogénesis y función lútea en ovejas

Como muchas otras especies de mamíferos, el desarrollo de las células ováricas germinales y células somáticas en la oveja progresa a través de los estados de mitosis y entra a la meiosis, seguido de la foliculogénesis inicial y por consiguiente del desarrollo folicular temprano durante la vida prenatal (Guigon & Magre, 2006).

El conglomerado de folículos primordiales, disponibles durante toda la vida reproductiva de los animales, no está quiescente en el ovario, sino que expresa cientos de genes que se encargan de mantener la maquinaria y las funciones de señalización de los folículos. Una vez que los folículos dejan el grupo de folículos primordiales, están comprometidos a continuar su desarrollo en forma independiente de las gonadotropinas (Scaramuzzi et al., 1993). En esta etapa son sensibles a la acción de factores de crecimiento, y su crecimiento es regulado por factores producidos por el ovocito (BMP15, GDF9) (McNatty et al., 2004).En la corteza del ovario desde que la oveja es feto las células germinales diploides

llamadas oogonias se dividen por mitosis para producir más oogonias. Estas oogonias en la oveja alrededor de 50 días antes del nacimiento entran a la profase de su primera división meiótica y luego son llamadas oocitos (Driancourt, Févre, Martal, & Al-Gubory, 2000). Al llegar a la etapa de diploteno de la profase meiótica el oocito está rodeado por una capa simple de células pre-granulosas escamosas y se establece un reservorio de folículos primordiales que alcanza alrededor de 40.000 a 300.000 folículos en ovejas (Bartlewski et al., 2011;Driancourt, Gougeon, Royère, & Thibault, 1993). Debido a razones inciertas, muchas células germinales mueren por apoptosis involucrando a los folículos primarios de los ovarios de las ovejas desde mediados de la gestación y hasta el nacimiento y además a lo largo de la vida posnatal (Bartlewski et al., 2011; Driancourt et al., 1993). Los folículos primordiales abandonan continuamente el grupo de folículos no crecientes a través de la activación de factores paracrinos (Roche, 1996) y como consecuencia la morfología y tasa de proliferación de las células de granulosa y de la teca cambian (Lundy, Smith, O'Connell, Hudson, & McNatty, 1999).

Los folículos primarios se caracterizan por poseer una sola capa de células granulosa cuboideas que rodean al oocito; cuando los folículos ováricos se convierten en folículos secundarios, estos tienen dos o tres capas de células de granulosa cuboideas. Las células de la teca empiezan a diferenciarse y se forman varias cavidades llenas de fluido las cuales coalescen durante la formación del folículo maduro o folículo terciario o de Graaff. Hacia el final del estadio temprano de la foliculogénesis, los folículos ováricos se vuelven receptivos a las hormonas gonadotrópicas, lo cual es un prerrequisito para el consiguiente crecimiento y maduración del folículo antral (Bartlewski et al., 2011; Campbell, Scaramuzzi, & Webb, 1995).

Con la llegada de la pubertad el folículo terciario entra en un estado preovulatorio en el cual la meiosis continúa con la metafase 2. Como el diámetro del folículo aumenta aproximadamente a 1-2 mm, la ultrasonografía se vuelve útil para evaluar el siguiente desarrollo de los folículos y cuerpos lúteos (Duggavathi, Bartlewski, Barrett, & Rawlings, 2003; Viñoles, Meikle, & Forsberg, 2004). Se ha estimado que el periodo de crecimiento folicular desde el estado primordial al estado preovulatorio en ovejas es aproximadamente de 6 meses (Cahill & Mauléon, 1980).

1.1.4 Patron de desarrollo antral folicular en la oveja

Tanto en ovejas de razas prolíficas como en las no prolíficas hay típicamente de 2 o 4 ondas de aparición de folículos por intervalo interovulatorio (Bartlewski et al., 2011). Este patrón de desarrollo folicular está cercanamente asociado con elevaciones periódicas de concentraciones séricas diarias de la hormona folículo estimulante (FSH). Los picos de aumentos transitorios en las concentraciones diarias de FSH ocurren justo antes de la aparición de la onda folicular. Además, la aparición de la onda de desarrollo folicular está asociada con el inicio del incremento transitorio de las concentraciones séricas de estradiol y el final de la fase de crecimiento de los folículos más grandes de ondas sucesivas que coinciden con el pico de concentraciones séricas de estradiol (Bartlewski et al., 2011). A partir de los estudios de las relaciones temporales entre los patrones de secreción de FSH y la aparición de ondas foliculares en ovinos, parece que la FSH controla principalmente la etapa inicial del crecimiento del folículo antral, pero el posterior desarrollo y finalización folicular son independientes de las fluctuaciones de FSH (Bartlewski, Beard, & Rawlings, 1999, 2000; Duggavathi et al., 2003). El proceso final de maduración con cambios endocrinos y morfológicos del folículo preovulatorio está íntimamente relacionado con la descarga preovulatoria de LH (Uribe-Velásquez, Correa-Orozco, & Osorio, 2009).

El número de ondas foliculares está relacionado con la condición corporal, y determina la tasa ovulatoria (Viñoles, Harris, Forsberg, Banchero, & Rubianes, 2002). Ovejas en alta condición corporal (4, escala 1 a 5) tienen mayor cantidad de folículos totales y desarrollan un patrón de tres ondas foliculares, teniendo más ovulaciones dobles comparadas con ovejas en condición corporal 2, que desarrollan un patrón de 2 o 3 ondas foliculares (Viñoles et al., 2002).

El aumento en la sensibilidad a las gonadotropinas está dado por la acción local de metabolitos y hormonas metabólicas (Scaramuzzi et al., 2006). Las vías metabólicas que se activan cuando aumenta el nivel nutricional de la oveja son múltiples (sistema IGF, leptina, glucosa-insulina, vía de la hexosamina, entre otros), y actúan como sensores a

nivel folicular para determinar un aumento en la cuota ovulatoria (Scaramuzzi, Brown, & Dupont, 2010).

Las ondas foliculares en las ovejas consisten en 1-4 folículos que alcanzan una etapa final de desarrollo similar. Se ha demostrado que los folículos antrales de las ondas finales y de la penúltima, del ciclo estral ovulan simultáneamente en ovejas prolíficas (P M Bartlewski et al., 1999; Gibbons, Kot, Thomas, Wiltbank, & Ginther, 1999). El hecho de que más de un folículo adquiere la capacidad de alcanzar un tamaño ovulatorio en una sola onda y los folículos de dos ondas consecutivas ovulan al mismo tiempo sugiere que la dominancia folicular es débil o ausente en la oveja hecho que ha sido demostrado en varios experimentos con diferentes comparaciones tanto in vivo como in vitro (Driancourt, Webb, & Fry, 1991).

Por otra parte, en ovejas cíclicas y en ovejas en anestro estacional, el folículo de mayor crecimiento de una onda no inhibe la aparición de una nueva onda folicular inducida por una dosis fisiológica de FSH dada a mitad del intervalo entre ondas (Duggavathi et al., 2005). Los folículos más grandes inducidos a crecer por una dosis fisiológica de FSH ovina exógena no alteran el patrón rítmico de la secreción de FSH endógena o la aparición de la siguiente onda folicular (Duggavathi et al., 2005).

En ovinos prolíficos, como los de la raza Finn, los folículos ovulatorios originados de las penúltimas ondas no sufren regresión o atresia la cual es prevenida por el incremento sérico de FSH y/o el incremento gradual de LH. Por otro lado, en ovinos no prolíficos como los de raza Western White este hecho no ocurre, lo que puede ser atribuido a menores concentraciones de FSH antes de la ovulación (Bartlewski et al., 1999). En general, las razas prolíficas tienen la capacidad de ovular folículos de menor tamaño a los ovulados por las no prolíficas. Además, poseen un menor tamaño de folículos durante todas las fases previas de desarrollo, incluyendo el reclutamiento folicular de cada onda. Sin embargo, existe gran variabilidad de razas teniendo diferentes tamaños de folículos a través de ellas (Driancourt, Gauld, Terqui, & Webb, 1986; Souza, Campbell, Webb, & Baird, 1997).

1.1.5 Luteogénesis, ciclo medio, función lútea y regresión del cuerpo lúteo

El cuerpo lúteo (CL) del ciclo estral de la oveja es formado principalmente por la acción de la hormona luteinizante (LH), involucrando una cascada de cambios fenotípicos y funcionales de las células de la granulosa y la teca de folículos rotos (Niswender, Juengel, Silva, Rollyson, & McIntush, 2000). La LH es obligatoria para el crecimiento inicial del CL y la diferenciación celular. Entre 3 y 4 días después de la ovulación el CL ovino tiene entre 6-8 mm de diámetro y alcanza su diámetro máximo de 11 a 14 mm, aproximadamente 6 días después (Bartlewski, Beard, Cook, & Rawlings, 1998). La atrofia luteal ocurre abruptamente en los ovinos 2 a 3 días después, entre los días 12 a 15 después de la ovulación (Bartlewski et al., 2011).

El factor luteolítico en rumiantes es la prostaglandina (PGF2α) secretada por las glándulas endometriales del útero (Knickerbocker, Wiltbank, & Niswender, 1988; Mann, Payne, & Lamming, 2001). Hacia el final de la fase lútea, el estradiol folicular incrementa la secreción de PGF2α y promueve la formación de receptores endometriales para oxitocina; esto se encuentra significativamente incrementado por la exposición previa a la progesterona (Mann et al., 2001).

El declinamiento de las concentraciones circulantes de progesterona en el inicio de la luteólisis está asociado con la ocurrencia de otro incremento en los niveles del receptor de oxitocina y la secreción pulsátil de PGF2α (Sheldrick & Flint, 1985). La oxitocina luteal y posiblemente la oxitocina de origen pituitario, juegan un papel importante en el mecanismo que controla la secreción de PGF2α en ovejas (Flint & Sheldrick, 1986).

1.1.6 Perfiles hormonales durante el ciclo estral de la oveja

El ciclo estral está asociado con una secuencia de eventos endocrinos interrelacionados que se encuentran regulados por la secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) proveniente del hipotálamo; la glándula pituitaria secreta FSH, LH y oxitocina; los folículos antrales ováricos secretan estrógenos e inhibina; el CL secreta progesterona y oxitocina y el endometrio uterino produce PGF2α (Bartlewski et al., 2011; Niswender et al., 2000). El desarrollo de los folículos ováricos, así como su maduración, esteroidogénesis, ovulación y formación del CL, están controlados primariamente por las gonadotropinas pituitarias.

La regulación de la secreción y biodisponibilidad de las hormonas gonadotrópicas depende de una compleja interacción entre varios factores internos y externos (Rawlings & Bartlewski, 2007). Los factores internos incluyen la producción local de aminoácidos y péptidos/hormonas proteicas, esteroides ováricos y otras hormonas foliculares como la inhibina, activina y folistatina, neurotransmisores, neuromoduladores y productos uterinos. También se sabe que los factores externos, incluyendo las señales fotoperiódicas, las feromonas masculinas, la nutrición y el estrés, afectan la función del eje hipotálamo-hipófisis-ovario. (Bartlewski et al., 2011). La regulación puede lograrse directamente, a través de los efectos sobre la secreción de GnRH, o indirectamente, alterando la respuesta hipofisaria a la GnRH o la sensibilidad ovárica a las gonadotropinas, la heterogeneidad de LH/FSH (por ejemplo, la glicosilación de la hormona), el flujo sanguíneo local o el intercambio de contracorriente de hormonas entre los vasos linfáticos y los vasos sanguíneos (Bartlewski et al., 2011).

La descarga pre-ovulatoria de GnRH y la subsecuente de LH y FSH alcanza un pico cerca de 14 horas antes de la ovulación (Baird, 1978; Rawlings, Jeffcoate, & Rieger, 1984). Esta oleada de gonadotropina es sostenida por una disminución de la progesterona y el aumento de la secreción de estradiol durante la etapa final del ciclo estral. Los pulsos rítmicos de LH generados por GnRH prevalecen en todos los estados reproductivos de las ovejas, incluyendo el ciclo anterior, durante y después de la oleada de gonadotropinas preovulatorias (Rawlings & Cook, 1993).

1.2 Prolificidad

La prolificidad se puede definir como el número de crías nacidas por oveja por parto y puede variar en función de las condiciones ambientales (salud, manejo y nutrición) y del componente genético del animal. Entre los componentes ambientales se incluye la raza, la edad, estado fisiológico, estado sanitario, estado nutricional, balance energético de la dieta, factores socio-sexuales (manejo de las hembras con presencia o ausencia de machos y/o hembras reproductivamente activas), la temperatura, la humedad, el estrés y el manejo específico de cada explotación (Álvarez & Zarco, 2001; Martínez Royo, 2011; Petrovic et al., 2012; Viñoles et al., 2009). Además, la rentabilidad o eficiencia de la producción ovina está condicionada por la fertilidad, que a su vez se ve mediada por la prolificidad estableciendo el número de animales viables para su utilización, por lo que algunos autores consideran más importante la prolificidad que la ganancia de peso (Liandris et al., 2012; Petrovic et al., 2012).

Por lo anterior, el aumento de la prolificidad es una vía para mejorar la producción, teniendo en cuenta los factores ambientales y los factores genéticos como la utilización de genes mayores con gran efecto sobre la tasa de ovulación (Argüello-Hernández et al., 2014). Los factores genéticos contribuyen no solo a la diversidad y mejoramiento de una raza, sino que tienen un efecto sobre la expresión del fenotipo que está asociado a genes que afectan los mecanismos fisiológicos implicados en una función biológica (Loys Bodin et al., 2007). Algunas de las estimaciones de la prolificidad son expresadas a través del parámetro denominado tasa de ovulación (Martínez Royo, 2011). La mejora de esta característica es uno de los objetivos de mayor interés en los sistemas de explotación de ovinos de carne mediante la intensificación de la producción a través del incremento de la productividad por oveja (Martínez Royo, 2011). Esta característica puede ser estimada mediante la tasa ovulatoria que es el número de óvulos que se liberan en un ciclo reproductivo de cualquier hembra, pero cuyo valor real es el número de crías por parto por hembra. En ovinos se

utilizan los valores promedio del número de crías por parto por hembra a lo largo de varios ciclos reproductivos (Muñoz & Jurado, 2012).

Muchas especies de mamíferos que incluyen primates, cabras, bovinos y ciervos, entre otros, normalmente tienen una tasa de ovulación (TO) de 1 y algunas veces 2 óvulos, mientras que, otras especies animales como los ratones, hámster, gatos, perros y porcinos la TO que varía entre 4 y 15 óvulos (Mcnatty et al., 2005). La variación de la TO entre especies permite valorar la necesidad de identificar un modelo animal con un amplio rango de TO, por lo que, en este contexto, la oveja (Ovis aries) proporciona un excelente modelo experimental, porque tiene más de 900 razas diferentes que varían ampliamente en sus características fisiológicas incluyendo la TO y la fecundidad (Terrill, 1979 en: Montgomery, Galloway, Davis, & McNatty, 2001). La tasa de ovulación (TO= número de oocitos liberados durante un ciclo reproductivo) está determinada por un intercambio complejo de señales endocrinas entre la glándula pituitaria y el ovario y por señales paracrinas y posiblemente autocrinas dentro de los folículos ováricos que involucran al oocito y sus células somáticas adyacentes (Dong et al., 1996; Galloway et al., 2000; Eppig, 2001; Durlinger et al., 2002; Knight and Glister, 2003; Shimasaki et al., 2004).

Gran parte de los costos de producción de un sistema productivo está dado por el mantenimiento de las hembras a través de los diferentes periodos de producción, por lo que la hembra que produzca más de una cría por parto reducirá los costos de mantenimiento por animal nacido. En consecuencia, una alta prolificidad resultará en un mayor número de crías por hembra, reduciendo los costos de mantenimiento de la madre por unidad de producción y también obteniendo una más rápida expansión del sistema productivo (Alonso, 1981). Actualmente no existe un plan de mejoramiento ovino organizado en Colombia. La mayoría de las granjas utilizan libre apareamiento con machos que se encuentran permanentemente dentro del grupo o grupos de hembras con un infrecuente control sobre la actividad reproductiva (Lozano, 2015).

Aunque el mecanismo general del ciclo reproductivo en mamíferos se encuentra bien entendido y se reconoce la existencia de una compleja comunicación endocrina entre el sistema nervioso central y los ovarios, el mecanismo fundamental que controla el número de folículos ovulados en cada ciclo reproductivo en ovejas, sigue siendo poco entendido (Martínez Royo, 2011). Por lo general, en los ovinos, las hembras tienen una o dos crías,

no obstante, algunos trabajos u otros investigadores (Fabre et al., 2006) han observado una amplia variación en el rango del número de crías en las diferentes razas e incluso se han observado amplias variaciones dentro de una misma raza (Fabre et al., 2006), pudiéndose llegar hasta 5 crías por parto en la raza Romanov en Canadá (Fahmy, 1986) y 7 en la raza Belle-lle en Francia (LIU et al., 2014). Se han reportado varios promedios en razas prolíficas como 2.65 para la raza Small Tailed Han en China (Wang, Li, & Wei, 1990), de 1.16 a 2.20 en la raza Pelibuey en México y Venezuela (Dickson, Torres, D'Aubeterre, & García, 2004; Segura, Sarmiento, & Rojas, 1996), 1.2 a 1.5 para la Rasa Aragonesa en España (Sierra, 1992) y 2.23 para la raza Belle-lle en Francia que se encuentra en peligro de extinción (Davis, 2005; LIU et al., 2014),

Varios estudios genéticos en ovinos han establecido que la tasa de ovulación y el tamaño de camada o prolificidad, pueden ser regulados genéticamente por un grupo de diferentes genes, cada uno de ellos con un efecto menor, o alternativamente por la acción de genes simples con efecto mayor denominados genes mayores o de fecundidad (Fec) (Davis, 2004; Davis, 2005; LIU et al., 2014; McNatty & Henderson, 1987; Musthafa & Marikar, 2014; Notter, 2012).En este aspecto, es necesario destacar que los ovinos han sido considerados como una especie modelo para identificar genes involucrados en los mecanismos que controlan la tasa de ovulación (Fabre et al., 2006).

Los genes Fec identificados en ovejas son el receptor de la proteína morfogenética ósea tipo IB (BMPRIB) o Activin Like Kinase 6, conocido como FecB localizado en el cromosoma 6 (Mulsant et al., 2001; Wilson et al., 2001), el factor de diferenciación del crecimiento 9 (GDF9), conocido como FecG localizado en el cromosoma 5 (James P. Hanrahan et al., 2004) y la proteína morfogenética ósea 15 (BMP15), conocida como FecX localizada en el cromosoma X (Hanrahan et al., 2004) y es expresado en oocitos (Moore, Otsuka, & Shimasaki, 2003). Las mutaciones FecG (una mutación del gen GDF9) y FecX (cuatro mutaciones diferentes del gen BMP15) condujeron a un aumento de las tasas de ovulación en animales heterocigóticos y a la esterilidad en los animales homocigóticos (Shabir & Ganai, 2012).

Los principales polimorfismos reportados en estos tres genes con efecto sobre el incremento en la tasa de ovulación y el tamaño de camada o prolificidad, se han identificado en las razas Booroola, Indian Garole, Indonesian Javanese, Chinese Hu y Small-tailed Han (Davis et al., 2006; Davis et al., 2002; Fabre et al., 2006), en el gen de la proteína morfogenética ósea tipo IB (BMPRIB), en las razas Belclaire y Cambridge, Indian Garole, Indonesian Javanese, Indian Kendrapada, Indian Bonpala, Iran Kalehkoohi, Chinese Hu, Duolang, Cele, Wadi, Altay, Bayanbulak y Small-tailed Han (Davis et al., 2006; Davis et al., 2002; Fabre et al., 2006; Kumar, Mishra, Kolte, Dash, & Karim, 2008; LIU et al., 2014; Mahdavi, Nanekarani, & Hosseini, 2014; Roy et al., 2011) y en el gen de la proteína morfogenética ósea 15 en las razas Inverdale, Hanna, Belclare, Cambridge y Lacaune. Por último, en el gen del factor de diferenciación del crecimiento (GDF9) en las razas Belclaire y Cambridge (Davis, 2004; Muñoz & Jurado, 2012).

En la todos los casos en los cuales se hallaron fenotipos de elevada prolificidad y por consiguiente de tasa de ovulación (TO) dentro de una raza y que se encontraron polimorfismos causales de tipo SNP para estos tres genes (BMPR-1B, BMP15 y GDF9), sugieren un efecto directo y específico sobre la foliculogénesis, evidenciado a través del incremento en la sensibilidad de los oocitos a la hormona folículo estimulante (FSH) (Abdoli et al., 2013; Davis, 2005; Hanrahan, 2003; Hanrahan et al., 2004; McNatty et al., 2003; Polley et al., 2010; Souza, MacDougall, Campbell, McNeilly, & Baird, 2001; Våge et al., 2013).

Se han identificado varios polimorfismos tipo SNP en estos tres genes (BMPR1B, BMP15 y GDF9) que se han podido asociar a un incremento en la tasa de ovulación (TO), pero no se ha podido detectar un cambio importante en los niveles de secreción de gonadotropinas (FSH, LH, estradiol, inhibina) (Montgomery, McNatty, & Davis, 1992; Shackell et al., 1993; Souza, Campbell, Webb, & Baird, 1997). Sin embargo, se reconoce que estos genes se encuentran involucrados en la misma vía biológica que controla la ovulación. Aunque aún no se ha esclarecido completamente el papel biológico de los genes BMP15 y GDF9 se reconoce que intervienen en la regulación de las funciones de las células de la granulosa y teca ováricas (Fabre et al., 2006; Mcnatty et al., 2005).

Se ha demostrado que las mutaciones encontradas en estos genes pueden estar asociadas con diferentes efectos fenotípicos. Se pudo determinar que el alelo mutado de

FecBB (Booroola) se encontraba asociado con el efecto aditivo sobre la tasa de ovulación (Mulsant et al., 2001; Wilson et al., 2001), mientras que las mutaciones FecG y FecX conducen a tasas de ovulación incrementadas en animales heterocigotos y a esterilidad en animales homocigóticos. Las hembras portadoras heterocigotas de los alelos FecG (high fertility), FecX (Inverdale), FecXH (Hanna), FecXB (Belclare) o FecXG (Galway) presentan una a dos ovulaciones adicionales, comparadas con las no portadoras, mientras que las ovejas homocigotas son estériles debido al bloqueo del proceso de foliculogénesis (Galloway et al., 2000; Hanrahan et al., 2004; McNatty et al., 2005). La mutación FecGH conduce a la sustitución de una serina con una fenilalanina en la posición 77 del péptido GDF9 maduro (S77F) (Hanrahan et al., 2004)]; asimismo, las mutaciones FecXI y FecXB provocan las sustituciones de aminoácidos no conservativos en las posiciones 31 y 99, dentro de la proteína madura BMP15. Interesantemente, las ovejas mutantes FecXI y FecXB exhiben el mismo fenotipo que las portadoras de las mutaciones FecXG y FecXH que introducen un codón de parada prematuro en las posiciones 239 y 291 de la proteína BMP15, obstaculizando la producción de la forma madura biológicamente activa. Por consiguiente, se acepta que conducen a un incremento de la tasa de ovulación o esterilidad (Galloway et al., 2000).

1.2.1 El sistema de la proteína morfogénica ósea

La familia de proteínas de los factores de crecimiento transformante TGF- β son los factores de crecimiento más importantes en el ovario para el crecimiento y diferenciación de los folículos ováricos en etapas tempranas de desarrollo. Tres proteínas pertenecientes a esta familia presentes en los oocitos (BMPR1B, BMP15 y GDF9) son esenciales para el crecimiento folicular y la ovulación (Shabir & Ganai, 2012). Los factores BMP actúan a través de dos subtipos de receptores de dominio transmembranales con actividad serina-treonina quinasa. ALK-2, 3 y 6 actúan como receptores tipo 1 para los factores BMP, mientras que el receptor 2 de BMP (BMPR-2), el receptor 2 y 2b de Activina (ActR-2, ActR2b) son receptores tipo 2. Las moléculas diméricas BMP interactúan con los complejos heterotetramèricos de los receptores tipo 1 y tipo 2. Dentro de cada complejo, la actividad constitutiva quinasa del receptor tipo 2 fosforila el receptor tipo 1. Una vez fosforilado, el

receptor tipo 1 recluta y fosforila moléculas intracelulares de señalización de la familia de proteínas Smad. El receptor BMP regulado Smad fosforilado (Smad 1,5 u 8) interactúa con el Smad común 4 y se transloca al núcleo donde estos heterocomplejos actúan como factores de transcripción o cofactores para regular la expresión de genes diana (Fabre et al., 2006; Miyazono et al., 2005)

Dentro de este mecanismo general, se ha demostrado que FecX/BMP-15 exhibe la más alta afinidad por los receptores FecB/BMPR-1B/Alk-6 y BMPR-2, consistente con la activación de la vía de señalización Smad 1 específica de BMP (Moore et al., 2003). En contraste, FecG/GDF9 induce la fosforilación y la activación de la vía de señalización TGFß/activina-especifica Smad 2 por la interacción con un inusual complejo receptor BMPR-2/Alk-5 (Mazerbourg et al., 2004; Vitt, Mazerbourg, Klein, & Hsueh, 2002). Entonces, BMPR-1B podría actuar como un potente receptor para BMP-15 pero no para GDF-9. Sin embargo, es probable que GDF-9 y BMP-15 cooperen, ya que pueden formar homodimeros y heterodìmeros cuando se producen en la misma célula en cultivo (Liao, Moore, Otsuka, & Shimasaki, 2003).

1.2.2 Gen BMPR-1B

El gen BMPR1B (receptor de la proteína morfogenética ósea tipo IB), también conocido como ALK-6 (Activin-like kinase receptor-6), es también reconocido con el nombre de Booroola y fue el primer gen mayor reportado con efecto sobre el incremento de la tasa de ovulación en ovejas (Fabre et al., 2006; Palomera & Alonso, 2014). Por primera vez, en 1980 Piper y Bindon reportaron la posibilidad de que la fecundidad en la raza Merino Booroola fuera el resultado de la acción de un gen mayor o un grupo de genes ligados que afectan la tasa de ovulación, y por consiguiente, la Prolificidad, (Petrovic et al., 2012).
En 1982 Piper y Bindon presentaron en un congreso de genetistas el primer trabajo relacionado con la transmisión de la Prolificidad en un rebaño de Merino Booroola. Afirmaron que la alta Prolificidad de este rebaño podía deberse a la acción de un gen mayor que afectaba la tasa de ovulación, por lo que postulan por primera vez, la existencia de un gen mayor con efecto sobre la Prolificidad (Davis, Montgomery, Allison, Kelly, & Bray, 1982). Dos décadas después, varios investigadores (Mulsant, Lecerf, Fabre, Schibler,

Monget, Lanneluc, Pisselet, Riquet, Monniaux, Callebaut, Cribiu, Thimonier, Teyssier, Bodin, Cognié, et al., 2001; Souza et al., 2001; Wilson et al., 2001), indican simultáneamente que la herencia de la Prolificidad observada en los Merino Booroola era debida a la presencia de una mutación en el receptor de BMPs (BMPR-1B).

En el Merino Booroola se denominó a un locus autosomicoi como locus de fecundidad Booroola (FecB) (Davis et al., 1982; Piper & Bindon, 1982). El efecto de la mutación es aditivo para la tasa de ovulación con un incremento de 1.65 aproximadamente por cada copia del alelo (Davis, McEwan, Fennessy, Dodds, & Farquhar, 1991; Montgomery, Galloway, Davis, & McNatty, 2001; Piper, Bindon, & Davis, 1984). Este fenotipo prolífico es debido a la acción de un locus autosómico que tiene influencia sobre el número de ovulaciones en cada ciclo estral. Las ovejas con genotipo homocigoto (FecBB/ FecBB), heterocigoto (FecBB/FecB+) y no portadoras (FecB+/FecB+) de la mutación pueden diferenciarse fenotípicamente por su tasa de ovulación, ya que liberan por ciclo estral 5 o más óvulos, 3 o 4, y 1 o 2, respectivamente (Davis et al., 1982; Fabre et al., 2006), encontrandose tasas de ovulación en animales FecBB/ FecBB cruzados con Merinos de hasta 15 óvulos (Mcnatty et al., 2005)

El gen BMPR-1B se encuentra localizado en el cromosoma 6 ovino (Abdoli et al., 2013; Fogarty, 2009) y la mutación con efecto sobre la tasa de ovulación se debe a un cambio de Adenina por Guanina en la posición 746 de la secuencia de ADN codificante, lo que supone una sustitución de arginina por glutamina (Q – R) en la posición 249 de la proteína (Abdoli et al., 2013; Palomera & Morales, 2014; Muñoz & Jurado, 2012).

El incremento en la prolificidad se asocia con una maduración precoz de un gran número de folículos antrales que ovulan de un tamaño más pequeño comparado a los que ovularía un animal no portador (Fabre et al., 2006; Henderson, Kieboom, McNatty, Lun, & Heath, 1985; McNatty & Henderson, 1987). Los folículos ovulatorios más pequeños para las ovejas homocigotas (FecBB/FecBB) contienen menos células de granulosa que los de las ovejas no portadoras (FecB+/FecB+). Sin embargo, al incrementar el número de folículos ovulados se compensa el reducido número de células de granulosa en cada uno de ellos. Consecuentemente, el total de células de granulosa de todos los folículos y el total de

producción de estradiol en ovejas homocigotas (FecBB/ FecBB) y en ovejas (FecB+/FecB+) son similares (Montgomery et al., 1992; Montgomery et al., 2001; Souza et al., 1997). Los óvulos de los animales FecBB/ FecBB son totalmente competentes y producen animales viables sin aparentes diferencias en fertilidad o viabilidad embrionaria entre los diferentes genotipos (Montgomery et al., 2001). Debido a esta buena característica se ha dado la introgresión de esta mutación en varias razas ovinas para mejorar la producción de corderos especialmente en los animales heterocigotos (Mcnatty et al., 2005).

La causa del incremento en la tasa de ovulación de los animales heterocigotos u homocigotos es la maduración temprana de los folículos debido al incremento de la respuesta a la hormona FSH y una adquisición temprana de receptores de LH por las células de la granulosa (Henderson et al., 1987; Shackell, Hudson, Heath, & Lun, 1993). En ovejas Booroola, las células de la granulosa adquieren los receptores para LH y los folículos alcanzan el tamaño preovulatorio luego de 16-17 duplicaciones de la población de células de granulosa comparado con las 18-19 duplicaciones en las no portadoras o tipo salvaje (Mcnatty et al., 2005).

Cabe destacar que tres trabajos independientes identificaron simultáneamente la mutación responsable de la alta prolificidad en las ovejas Booroola (Fabre et al., 2006; Mulsant et al., 2001; Wilson et al., 2001). Posteriormente a la identificación de esta mutación, se ha tratado de caracterizar la presencia de este polimorfismo en varias razas prolíficas y se pudo identificar en las razas Indian Garole, Indonesian Javanese, Indian Kendrapada, Indian Bonpala, Iran Kalehkoohi, Chinese Hu, Duolang, Cele, Wadi, Altay, Bayanbulak y Small-tailed Han (Davis et al., 2006; Davis et al., 2002; Fabre et al., 2006; Kumar et al., 2008; LIU et al., 2014; Mahdavi et al., 2014; Roy et al., 2011) por tanto estas razas pueden compartir un ancestro común (Chu, Liu, et al., 2007).

Estos datos indican un completo sistema de señalización BMP que se encuentra presente y funcionando en los ovarios de los rumiantes desde etapas fetales hasta la edad adulta de los animales. Esto indica que puede ejercer acciones paracrinas y autocrinas en la formación y desarrollo de los folículos ováricos. Numerosos factores de crecimiento BMP son expresados específicamente o principalmente por el oocito (BMP-15, GDF-9 y BMP-6), mientras que otros son expresados por las células somáticas foliculares (BMP-2, BMP-

4, y BMP-7). Todos los compartimientos celulares del folículo, especialmente las células de la granulosa, están equipados con receptores BMP, luego estos son objetivos de la acción biológica de BMP (Fabre et al., 2006).

El Gen FecB ha sido ampliamente usado para el mejoramiento de razas ovinas, aunque queda aún por aclarar cómo esta mutación afecta al receptor para causar cambios en la función ovárica. No existen cambios en las tasas de secreción esteroidea de los ovarios o de inhibina durante la fase folicular o lútea de cada ciclo (G. W. Montgomery et al., 2001).Se ha evidenciado que animales homocigotos (FecB/FecB) tienen concentraciones plasmáticas de las hormonas FSH y LH, más altas que los animales heterocigotos (FecB/Fec+) que a su vez las tienen más altas que los no portadores (Fec+/Fec+)(K P McNatty & Henderson, 1987; Palomera & Alonso, 2014). Siendo evidente que no solo las células son más sensibles a estas hormonas, sino que también la concentración hormonal aumenta por todo el torrente sanguíneo.

1.2.3 Gen BMP15

BMP15, también conocido como factor de crecimiento y diferenciación 9B (GDF9B), es uno de los miembros de la superfamilia de los factores de crecimiento transformante ß (TGF ß) que en humanos, roedores y ovejas se expresa exclusivamente en el oocito (Galloway, Gregan, Wilson, Mcnatty, & Juengel, 2002). La proteína BMP15 actúa a través de una cascada de proteínas señalizadoras (via Smad), que son responsables de una gran cantidad de comportamientos fisiológicos a nivel celular, en los que se incluye el desarrollo y maduración de ovocitos (Shimasaki et al., 1999; Xu, Li, Han, Chen, & Xie, 2010). Los efectos biológicos de las BMPs están mediados por receptores de superficie celular específicos tipo 1 y tipo 2 estructuralmente parecidos, ambos tienen actividad serina/tronina kinasa intrínseca. Su estimulación inicia cascadas de señalización intracelulares que regulan eventos transcripcionales necesarios para la proliferación y diferenciación celular (Pangas et al., 2008).

BMP15 regula la proliferación y diferenciación de las células de la granulosa mediante el estímulo de la mitosis, suprimiendo la expresión del receptor para la hormona FSH y estimulando la expresión del kit ligando, todos los cuales juegan un papel importante en la fertilidad de hembras mamíferas (Moore & Shimasaki, 2005; F Otsuka, Yamamoto, Erickson, & Shimasaki, 2001; Fumio Otsuka & Shimasaki, 2002). Los factores de crecimiento polipeptídicos secretados por los oocitos BMP15 y GDF9 han demostrado ser esenciales para el desarrollo folicular (McNatty et al., 2003; McNatty et al., 2005; Shimasaki, Moore, Otsuka, & Erickson, 2004); además, ambas proteínas han mostrado ser claves en la regulación de la TO en ovinos (Davis, McEwan, et al., 1991; Galloway et al., 2000; Hanrahan et al., 2004).

Una de las mutaciones encontradas en este gen, es conocida como Inverdale y fue una de las primeras reportadas con mayor efecto sobre la TO en ovejas Romney (Galloway et al., 2000; McNatty et al., 2005). El gen de alta fertilidad Inverdale (FecXI) es un gen mayor para prolificidad en ovejas que se identificó por primera vez en descendientes de la raza ovina Romney con altos tamaños de camada. Estudios de segregación han mostrado que el gen se ubica en el cromosoma X (Davis, McEwan, et al., 1991). En ovinos una sola copia de este alelo en estado heterocigoto (FecXI/FecX+) incrementa la TO cerca de un óvulo extra y cerca de 0.6 corderos más por parto. Sin embargo, en estado homocigoto (FecXI/FecXI) las ovejas presentan ovarios pequeños y no funcionales, por lo que son estériles (Davis et al., 1992; Galloway, Gregan, Wilson, Mcnatty, et al., 2002). Los ovarios de hembras homocigotas adultas revelan que no poseen folículos normales desarrollados más allá de los estadios primarios, los niveles de FSH y LH circundante son similares a los de ovejas ovariectomizadas y no hay estradiol o inhibina detectables (Galloway, Gregan, Wilson, McNatty, et al., 2002).

Shackell y colaboradores (1993) no encontraron diferencias entre los 3 genotipos posibles (FecXI/FecXI, FecXI/FecX+, y FecX+/FecX+) en relación con el número total de folículos tipo 1 o 2, en ovejas adultas, por lo que se propuso que el proceso de formación folicular y los factores involucrados en el inicio del crecimiento folicular son probablemente los mismos para los 3 genotipos. Sin embargo, el número total de folículos antrales encontrado en las ovejas adultas de genotipo FecXI/FecX+ fue mayor al de las no portadoras (FecX+/FecX+). Por otro lado, los folículos preovulatorios en las ovejas heterocigotas al madurar alcanzan un menor tamaño y logran una maduración temprana que puede ser

atribuida a un aumento de la sensibilidad a la FSH y a una temprana adquisición de receptores para la LH (Shackell et al., 1993).

El gen ovino BMP15 pudo ser secuenciado y mostró una alta similaridad con el gen en humanos ratones y ratas, y tiene una longitud de 1179 pb y 2 exones. La mutación FecXI consiste en una transversión (T-A) en el nucleótido 92 de la región codificante resultando en una sustitución de valina por ácido aspártico (V/D) en el aminoácido 31 de la proteína madura en una región conservada (Galloway et al., 2000). Aparentemente el cambio de aminoácido perjudica la habilidad de la BMP15 de formar dímeros e interfiere con la acción biológica de la proteína en ovejas homocigotas para esta variante (Montgomery et al., 2001).

FecXH es conocida como Hanna y consiste en una transición (C-T) en el nucleótido 67 de la región codificante para el péptido maduro (aminoácido 291 del péptido no procesado) introduciendo un codón de parada prematuro en la secuencia, lo que probablemente resulta en una completa pérdida de la función de BMP15 en animales homocigotos para la variante FecxH (Montgomery et al., 2001).

FecXL fue encontrado en la raza Lacaune y consiste en un cambio de guanina por adenina (G-A) en la posición 1196 del ADN codificante introduciendo un cambio de cisteína por tirosina (C-Y) en la posición 53 del péptido maduro alterando el procesamiento del péptido y demostrando que aumenta en 2 la TO en las ovejas de la raza Lacaune (Bodin et al., 2007; Muñoz & Jurado, 2012; Palomera & Alonso, 2014). Adicionalmente, Shackell y colaboradores (1993) indicaron que no existían diferencias en las concentraciones plasmáticas de gonadotropinas entre las ovejas heterocigotas FecXL/FecX+ y las no portadoras FecX+/FecX+. Sin embargo, se destaca que para ovejas homocigotas FecXI/FecXI las concentraciones plasmáticas de gonadotropinas eran elevadas sugiriendo que la elevada concentración de FSH, en este caso con ovarios inactivos, era el resultado de un reducido feedback negativo proveniente de los folículos en el ovario y no por cambios en la función pituitaria (Juengel et al., 2004).

FecXG consiste en un cambio (C-T) en la posición 718 del gen BMP15 cambiando una glutamina por treonina en la posición 239 de la proteína no madura (Q239T) e introduce un codón prematuro de parada que presumiblemente resulta en la pérdida de la función de BMP15 (Chu, Liu, et al., 2007; Hanrahan et al., 2004). Esta mutación fue encontrada en las razas ovinas Cambridge y Belclare encontrando que las hembras heterocigotas tenían aproximadamente 0.5 corderos más por parto (Hanrahan et al., 2004).

FecXB fue encontrada en la raza Belclaire y consiste en un cambio de guanina por timina (G-T) en el nucleótido 1100 sustituyendo una serina por una isoleucina en la posición 367 del aminoácido del péptido no procesado (aminoácido 99 de la proteína madura) (Muñoz & Jurado, 2012; Palomera & Alonso, 2014).

FecXR es una mutación encontrada en la raza Rasa Aragonesa que consiste en una deleción de 17 pb en la secuencia de inicio del exón 2 introduciendo un codón de parada prematuro, resultando en la no síntesis del péptido. Esta modificación incrementa la Prolificidad de ovejas heterocigotas a 2.66 corderos por parto, comparada con el 1.36 de las hembras no portadoras de esta raza (Monteagudo, Ponz, Tejedor, Laviña, & Sierra, 2009; Palomera & Alonso, 2014).

En ovejas heterocigotas con cualquier tipo de polimorfismo del gen BMP15 (FecXI, FecXH, FecXG, FecXB, FecXL y FecXR), se ha documentado que existe una elevada TO, comparada con las del genotipo silvestre (Mcnatty et al., 2005; Monteagudo et al., 2009; Palomera & Alonso, 2014). Por otro lado, en ovejas homocigotas para todas las mutaciones del gen BMP15 se produce un fenotipo similar a nivel de ovario, caracterizado por folículos bloqueados en los estadios primarios de la foliculogénesis, ocasionando esterilidad en las hembras (Fabre et al., 2006; Galloway et al., 2000; Hanrahan et al., 2004; Muñoz & Jurado, 2012).

El gen BMP15 está cercanamente relacionado con el gen GDF9, otro miembro de esta superfamilia oocito-específica que ha mostrado ser esencial para la foliculogénesis ovárica; ambas moléculas están fuertemente relacionadas y comparten un patrón idéntico de expresión espacio temporal durante la foliculogénesis en mamíferos (Liao et al., 2003). La inactivación del gen BMP15 en ratones ha mostrado pequeños efectos en la fertilidad. Sin embargo, las líneas ovinas Inverdale y Hanna tienen naturalmente mutaciones en

BMP15 que enmarcan diferencias en la acción de este gen entre ratones y otros mamíferos (Galloway, Gregan, Wilson, McNatty, et al., 2002).

En general, las mutaciones ubicadas en el gen BMP15 (FecXI, FecXH, FecXG, FecXB, FecXL y FecXR) en estado heterocigoto inducen una maduración precoz de los folículos ováricos al aumentar su sensibilidad a la hormona FSH. Como resultado, en las ovejas portadoras se produce una ovulación y luteinización de varios folículos maduros que son de menor tamaño con una sensibilidad precoz a la hormona LH conduciendo a la elevación de la TO en estos animales (Fabre et al., 2006; Galloway et al., 2000; Scaramuzzi et al., 2011)

Una característica común de las mutaciones ubicadas en los genes BMP15 y BMPR1B es que los cambios en los oocitos son evidentes durante la etapa temprana de desarrollo preantral seguido de una maduración folicular precoz de cada folículo preovulatorio conteniendo una población reducida de células de la granulosa (McNatty et al., 2005). El fenotipo ovárico en los animales homocigotos para las diferentes mutaciones relacionadas con la prolificidad ubicadas en el gen BMP15 es similar al del gen GDF9 (Fabre et al., 2006; McNatty et al., 2005). Por lo que si se buscara caracterizar específicamente que tipo de mutación es (Inverdale, Galway, Belclare, entre otras), se debe hacer mediante alguna técnica genética específica que permita determinar el genotipo exacto que está ocasionando ese fenotipo.

1.2.4 Gen GDF9

También conocido y denominado como FecG es un gen autosómico ubicado en el cromosoma 5 ovino. En ratones GDF9 (factor de crecimiento y diferenciación 9) es expresado en oocitos desde la etapa primaria de desarrollo folicular hasta la ovulación mientras que su inactivación bloquea la foliculogénesis originando animales estériles (Carabatsos, Elvin, Matzuk, & Albertini, 1998; Dong et al., 1996). Además, GDF9 puede estar involucrado en la luteinización del folículo en la ovulación (Juengel et al., 2002).

El gen GDF-9 es un potente estimulador para la proliferación de las células de la granulosa en ratas; en este gen se han reportado varias mutaciones y cuando el genotipo es homocigoto los individuos presentan un fenotipo de esterilidad, de modo similar al fenotipo que se puede encontrar en individuos homocigotos para el gen BMP15 (Fabre et al., 2006). Sin embargo, este fenotipo no es igual. Si bien es cierto que los individuos son estériles, los folículos de los animales homocigotos para GDF-9 alcanzan un estadio temprano de desarrollo un poco más avanzado al que se puede encontrar con las mutaciones presentes en el gen BMP15.

El gen GDF9 tiene un patrón de herencia sobredominante y es esencial para el control del crecimiento folicular por la influencia que tiene sobre las células de la granulosa (Galloway, Gregan, Wilson, McNatty, et al., 2002; Hanrahan et al., 2004). En los animales homocigotos el desarrollo ovárico desde la etapa preantral hasta el crecimiento folicular presenta diferencias con respecto a los no portadores. Por consiguiente, las hembras homocigotas no ovulan y son infértiles, en contraste con los animales heterocigotos en los que la TO es >2 (Palomera & Alonso, 2014).

La mutación causal FecGH (G8) encontrada en ovejas de la raza Belclare resulta en un cambio de citosina por timina (C-T) en la posición 1184 del ADN codificante provocando una sustitución de serina por fenilananina (S-F) (Muñoz & Jurado, 2012) en la posición 77 del péptido maduro, en una región que según predicciones interactúa con el receptor tipo 1 (McNatty et al., 2005). Los animales homocigotos para esta mutación son anovulatorios, es decir, estériles mientras que los animales heterocigotos tienen medias de TO más altas que los animales no portadores de la mutación (Mcnatty et al., 2005). Se sugiere que en ovejas el efecto de la mutación FecGH (G8) sobre la TO es mayor que el de las mutaciones ubicadas en el gen BMP15, ya que con una copia de FecGH se incrementa la TO en 1.4, como pudo ser demostrado en un estudio realizado en las razas Belclare y Cambridge, Tabla 1.1 (Davis, 2004).

En ovinos se han reportado varias mutaciones diferentes en este gen, siendo las más comunes, G1 que es un cambio de arginina por histidina en la posición 87 (R-H), G4 es un cambio de ácido glutámico por lisina en la posición 24 (E-K), G7 es un cambio de una valina por metionina en la posición 371 (V-M) y G8 es un cambio de serina por fenilananina

del péptido inmaduro (S-F) (Hanrahan et al., 2004; Liandris et al., 2012). Sin embargo, la mayor cantidad de análisis se han centrado en los loci G8 (FecGH) y G1 debido a que son los responsables de un aumento en el tamaño de camada (Moradband, Rahimi, & Gholizadeh, 2011).

Silva et al., (2011) encontraron un polimorfismo en el gen GDF9 en ovejas de la raza Santa Inés que tenían antecedentes de partos dobles y triples, lo que les permitió describir por primera vez un polimorfismo tipo SNP, llamado FecGE (Embrapa), que no produce esterilidad en las hembras homocigotas e incrementa la TO en 1 en las hembras homocigotas (Silva et al., 2011).

Tabla 1-1: Polimorfismos tipo SNP reportados en el gen GDF9 en ovejas (*Ovis aries*)].

Mutación	Cambio de base	Base ADNc	Aminoácido péptido inmaduro	Aminoácido péptido maduro	Cambio de aminoácido	Referencia
G1	G/A	260	87	-	Arg/ His	(Hanrahan et al., 2004)
G2	C/T	471	157	-	Val/Val	
G3	G/A	477	159	-	Leu	
G4	G/A	721	241	-	Glu/Lys	
G5	A/G	978	326	8	Glu/Glu	
G6	G/A	994	332	14	Val/Ile	
G7	G/A	1111	371	53	Val/Met	
G8/ FecGh	C/T	1184	395	77	Ser/Phe	
$FecG^{SI}$/ FecGE	T/G	1034	345	27	Phe/Cys	(Melo et al., 2008)
FecTT	A/C	1279	427	109	Ser/Arg	(Nicol et al., 2009)
A152G	A/G	152	51	-	Asn/Asp	(BiBXia, MingBXing, & JinBYu, 2003)
T692C	T/C	692	231	-	Leu/Thr	(Gao, 2007)
G729T	G/T	729	243	-	Gln/His	(Chu et al., 2011)

1.2.5 Otros Genes

En algunas razas de ovejas se han reportado otros genes relacionados con la Prolificidad, debido a que se han observado tamaños de camada extremos y/o transmisión hereditaria entre animales emparentados. Sin embargo, es poca la información que se tiene, dado que no se conoce el gen o la mutación causal (Bodin, 2006).

El primero de estos genes se denomina de modo similar a la mutación FecXL de BMP15, gen Lacaune, por haberse identificado en la raza francesa del mismo nombre. Aunque no se ha encontrado la mutación causal, fue localizado en el cromosoma 11. (Bodin et al., 2007). Su efecto es aditivo y una copia del gen aumenta la TO en 1.5 mientras que dos copias aumentan la TO en 3 (Drouilhet, Lecerf, Bodin, Fabre, & Mulsant, 2009).

El gen receptor de estrógenos (ESR) se encuentra ubicado en el cromosoma 17 y se ha relacionado con el incremento de camada en cerdos (Polley et al., 2010). En ovejas se ha encontrado en razas hiperprolíficas de las razas Small Tail, Han, Hu y German Mutton Merino; el cambio de secuencia se da por una modificación de cisteína por guanina en la posición nucleotídica 363 del gen y se encuentra asociada a un aumento aditivo de 0.5 y 0.7 corderos más por cada copia respectivamente (Bi, Chu, Jin, Fang, & Ye, 2005). Sin embargo, este polimorfismo no ha sido reportado en otras razas ni su asociación con la prolificidad (Palomera & Alonso, 2014).

El gen Woodlans fue descubierto en 1999 y aunque se sabe que está ligado al cromosoma X, aún no se ha identificado su mutación causal. Este gen presenta una impronta materna, lo que significa que cuando una hembra hereda el gen de su padre, el efecto es silenciado sin incremento en la Prolificidad. Por otro lado, las hembras que lo heredan de madres que lo expresan, tienen hijas que lo tienen silenciado y, por último, las que lo heredan de una madre con el gen silenciado lo expresaran (Davis, Dodds, Wheeler, & Jay, 2001).

El gen de la prolactina (PRL) ubicado en el cromosoma 16 también ha presentado efecto sobre la prolificidad en la raza ovina Han, produciéndose hasta 0.83 más corderos comparado con individuos que no portan el polimorfismo de una guanina por una timina en la posición 63 del gen (Chu, Mu, Fang, Ye, & Sun, 2007).

Existen evidencias de otro gen mayor autosómico con efecto aditivo sobre la TO, el cual fue identificado en un cruce de ovinos de raza Thoka y Cheviot. La ubicación cromosómica de este gen es desconocida, aunque se sabe que no tiene relación con FecB ni con FecX. Actualmente, se le ha nombrado gen Thoka y su efecto fenotípico sobre el tamaño de camada es de 0.7 corderos por parto (Davis, 2005; Rhind, Gittus, Potts, & Bishop, 2000). Finalmente, desde año 2005 se reconoce la existencia de otro gen llamado Wishart, cuya evidencia mostró que se trataría de un gen autosómico y que la presencia de una copia aumenta la TO entre 0.8 y 1 ovocito (Davis, 2005).

1.3 Conclusiones

La reproducción es un proceso fisiológico complejo que se encuentra modulado por factores ambientales, factores neuroendocrinos internos y factores genéticos que constantemente interactúan sobre el animal para que éste muestre determinado fenotipo. Es un proceso importante desde el punto de vista productivo, siendo la base de la rentabilidad de los sistemas ovinos, por lo que, siempre será importante ahondar sobre todos los aspectos involucrados en ella, para determinar cuales la afectan bajo las condiciones agroclimáticas de nuestro país. Lo anterior, con el fin de optimizar el uso de la tierra, mejorar la productividad de los sistemas ovinos y con ello la calidad de vida de quienes lo administran.

Los genes mayores con efecto sobre la reproducción vienen siendo analizados desde hace varios años para poder utilizarlos en pro del mejoramiento animal. Por ello, es importante desarrollar investigaciones teniendo en cuenta las diferentes razas, características reproductivas y agroclimáticas para validar su acción en las diferentes explotaciones de nuestro país. Lo anterior permitirá, su validación científica para que puedan ser usados en programas de mejoramiento genético y/o introgresión de alelos asociados positivamente con las características productivas de las poblaciones animales locales.

1.4 Bibliografía

1. La *Abdoli, R., Zamani, P., Deljou, A., & Rezvan, H. (2013). Association of BMPR-1B and GDF9 genes polymorphisms and secondary protein structure changes with reproduction traits in Mehraban ewes. Gene, 524(2), 296–303. https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.03.133*
2. *Aguirre, V., Orihuela, A., & Vásquez, R. (2007). Seasonal variations in sexual behavior, testosterone, testicular size and semen characteristics, as affected by social dominance, of tropical hair rams (Ovis aries). Animal Science Journal, 78(4), 417–423. https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2007.00456.x*
3. *Ali, A., & Hayder, M. (2008). Seasonal Variation of Reproductive Performance, Foetal Development and Progesterone Concentrations of Sheep in the Subtropics. Reproduction in Domestic Animals, 43(6), 730–734. https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2007.00980.x*
4. *Alonso, J. (1981). Manejo de la reproducción en el ovino. Revista Ciencia Veterinaria. Retrieved from https://scholar.google.es/scholar?q=Manejo+de+la+reproducción+en+el+ovino&btnG=&hl=en&as_sdt=0%2C5*
5. *Álvarez, L., & Zarco, L. A. (2001). Los fenómenos de bioestimulación sexual en ovejas y cabras. Vet. Méx, 32(2).*
6. *Argüello-Hernández, J. H., Cortez-Romero, C., Rojas-Martínez, R. I., Segura-León, O. L., Herrera-Haro, J. G., Salazar-Ortiz, J., & Gallegos-Sanchez, J. (2014). Polimorfismos de la proteína 15 morfogénica ósea (bmp15) y su relación con el tipo de parto en la oveja pelibuey. Agrociencia, 53–69. Retrieved from http://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v48n1/v48n1a4.pdf*
7. *Baird, D. T. (1978). Pulsatile Secretion of LH and Ovarian Estradiol During the Follicular Phase of the Sheep Estrous Cycle. Biology of Reproduction, 18(3), 359–364. https://doi.org/10.1095/biolreprod18.3.359*
8. *Bartlewski, P. M., Baby, T. E., & Giffin, J. L. (2011). Reproductive cycles in sheep. Animal Reproduction Science, 124(3–4), 259–268. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.02.024*
9. *Bartlewski, P. M., Beard, A. P., Cook, S. J., Chandolia, R. K., Honaramooz, A., & Rawlings, N. C. (1999). Ovarian antral follicular dynamics and their relationships with endocrine variables throughout the oestrous cycle in breeds of sheep differing in prolificacy. Journal of Reproduction and Fertility, 115(1), 111–124. https://doi.org/10.1530/JRF.0.1150111*
10. *Bartlewski, P. M., Beard, A. P., Cook, S. J., & Rawlings, N. C. (1998). Ovarian follicular dynamics during anoestrus in ewes. Journal of Reproduction and Fertility, 113(2), 275–85. https://doi.org/10.1530/JRF.0.1130275*
11. *Bartlewski, P. M., Beard, A. P., & Rawlings, N. C. (1999). An ultrasonographic study of luteal function in breeds of sheep with different ovulation rates. Theriogenology, 52(1), 115–130. https://doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00114-4*
12. *Bartlewski, P. M., Beard, A. P., & Rawlings, N. C. (2000). An ultrasound-aided study of temporal relationships between the patterns of LH/FSH secretion, development of ovulatory-sized antral follicles and formation of corpora lutea in ewes. Theriogenology, 54(2), 229–245. https://doi.org/10.1016/S0093-691X(00)00344-7*
13. *Bi, X.-D., Chu, M.-X., Jin, H.-G., Fang, L., & Ye, S.-C. (2005). [Estrogen receptor*

as a candidate gene for prolificacy of small tail Han sheep]. Yi Chuan Xue Bao = Acta Genetica Sinica, 32(10), 1060–5. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16252701

14. *BiBXia, L., MingBXing, C., & JinBYu, W. (2003). PCR-SSCP analysis on growth differentiation factor 9 gene in sheep. 遗传学报. Retrieved from https://www.researchgate.net/profile/Ming_Chu3/publication/10703660_PCR-SSCP_analysis_on_growth_differentiation_factor_9_gene_in_sheep/links/0a85e530343e4093b1000000.pdf*
15. *Bodin, L. (2006). Genes mayores en ganado ovino, implicaicones en la reproducción. Pequeños Rumiantes, 7(3), 38–44. Retrieved from http://europa.sim.ucm.es/compludoc/AA?articuloId=458642*
16. *Bodin, L., Di Pasquale, E., Fabre, S., Bontoux, M., Monget, P., Persani, L., & 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(1), 393–400. https://doi.org/10.1210/en.2006-0764*
17. *Boyazoglu, J., Hatziminaoglou, I., Morand-Fehr, P., & Casey, N. (2005). The role of the goat in society: Past, present and perspectives for the future. Small Ruminant Research, 60(60), 13–23. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.06.003*
18. *Cahill, L. P., & Mauléon, P. (1980). Influences of season, cycle and breed on follicular growth rates in sheep. Journal of Reproduction and Fertility, 58(2), 321–8. https://doi.org/10.1530/JRF.0.0580321*
19. *Campbell, B. K., Scaramuzzi, R. J., & Webb, R. (1995). Control of antral follicle development and selection in sheep and cattle. Journal of Reproduction and Fertility Supplement, 49, 335–350. Retrieved from https://www.researchgate.net/profile/Rex_Scaramuzzi/publication/15576472_Control_of_follicle_development_and_selection_in_sheep_and_cattle/links/0f31753ac34b826db9000000.pdf*
20. *Carabatsos, M. J., Elvin, J., Matzuk, M. M., & Albertini, D. F. (1998). Characterization of oocyte and follicle development in growth differentiation factor-9-deficient mice. Developmental Biology, 204(2), 373–84. https://doi.org/10.1006/dbio.1998.9087*
21. *Chu, M. X., Liu, Z. H., Jiao, C. L., He, Y. Q., Fang, L., Ye, S. C., … Wang, J. Y. (2007). Mutations in BMPR-IB and BMP-15 genes are associated with litter size in Small Tailed Han sheep (Ovis aries). Journal of Animal Science, 85(3), 598–603. https://doi.org/10.2527/jas.2006-324*
22. *Chu, M. X., Mu, Y. L., Fang, L., Ye, S. C., & Sun, S. H. (2007). Prolactin receptor as a candidate gene for prolificacy of small tail han sheep. Animal Biotechnology, 18(1), 65–73. https://doi.org/10.1080/10495390601090950*
23. *Chu, M. X., Yang, J., Feng, T., Cao, G. L., Fang, L., Di, R., … Li, N. (2011). GDF9 as a candidate gene for prolificacy of Small Tail Han sheep. Molecular Biology Reports, 38(8), 5199–5204. https://doi.org/10.1007/s11033-010-0670-5*
24. *Ciechanowska, M., Łapot, M., Malewski, T., Mateusiak, K., Misztal, T., & Przekop, F. (2008). Expression of the GnRH and GnRH receptor (GnRH-R) genes in the hypothalamus and of the GnRH-R gene in the anterior pituitary gland of anestrous and luteal phase ewes. Animal Reproduction Science, 108(3–4), 345–355.*

https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2007.09.002

25. *Clarke, I. J. (2011). Control of GnRH secretion: One step back. Frontiers in Neuroendocrinology, 32, 367–375. https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2011.01.001*
26. *Cox, J., Allende, R., Lara, E., Leiva, A., Díaz, T., Dorado, J., & Saravia, F. (2012). Follicular Dynamics, Interval to Ovulation and Fertility After AI in Short-Term Progesterone and PGF2α Oestrous Synchronization Protocol in Sheep. Reproduction in Domestic Animals, 47(6), 946–951. https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2012.01996.x*
27. *Cunningham, J. (1998). Ciclos reproductivos en Fisiología Veterinaria. Ciclos reproductivos en Fisiología Veterinaria. Retrieved from https://scholar.google.es/scholar?hl=en&q=Ciclos+reproductivos+en+Fisiología+Veterinaria&btnG=&as_sdt=1%2C5&as_sdtp=*
28. *Cunningham, J. G. (2003). Fisiología veterinaria. Elsevier. Retrieved from http://eds.b.ebscohost.com.ezproxy.unal.edu.co/eds/detail/detail?vid=4&sid=9660b1b4-9cd8-47cc-88c2-8c1742fe46f6%40sessionmgr120&bdata=Jmxhbmc9ZXMmc2l0ZT1lZHMtbGl2ZQ%3D%3D#AN=unc.000347115&db=cat02704a*
29. *Davis, G. . (2004). Fecundity genes in sheep. Animal Reproduction Science, 82, 247–253. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.04.001*
30. *Davis, G. H. (2004). Fecundity genes in sheep. Animal Reproduction Science, 82–83, 247–253. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.04.001*
31. *Davis, G. H. (2005). Major genes affecting ovulation rate in sheep. Genetics Selection and Evolution, 37(1), 11–23. https://doi.org/10.1186/1297-9686-37-S1-S11*
32. *Davis, G. H., Balakrishnan, L., Ross, I. K., Wilson, T., Galloway, S. M., Lumsden, B. M., … Notter, D. R. (2006). Investigation of the Booroola (FecB) and Inverdale (FecXI) mutations in 21 prolific breeds and strains of sheep sampled in 13 countries. Animal Reproduction Science, 92(1), 87–96. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2005.06.001*
33. *Davis, G. H., Dodds, K. G., Wheeler, R., & Jay, N. P. (2001). Evidence that an imprinted gene on the X chromosome increases ovulation rate in sheep. Biology of Reproduction, 64(1), 216–21. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11133677*
34. *Davis, G. H., Galloway, S. M., Ross, I. K., Gregan, S. M., Ward, J., Nimbkar, B. V, … Wilson, T. (2002). DNA tests in prolific sheep from eight countries provide new evidence on origin of the Booroola (FecB) mutation. Biology of Reproduction, 66(6), 1869–74. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12021074*
35. *Davis, G. H., Mcewan, J. C., Fennessy, P. F., Dodds, K. G., & Farquhar, P. A. (1991). Evidence for the Presence of a Major Gene Influencing Ovulation Rate on the X Chromosome of Sheep. Retrieved from https://oup.silverchair-cdn.com/oup/backfile/Content_public/Journal/biolreprod/44/4/10.1095_biolreprod44.4.620/1/biolreprod0620.pdf?Expires=1491179763&Signature=gEH-UWLk-adV~TylM8HrQL~O7ZxLZuZ6eiOw69pITOSOWom5K4YCaTokfBEuDqx1rx4V5xKCdKBSTcSKnKLQRS0EsZtvME*
36. *Davis, G. H., McEwan, J. C., Fennessy, P. F., Dodds, K. G., & Farquhar, P. A. (1991). Evidence for the presence of a major gene influencing ovulation rate on the X chromosome of sheep. Biology of Reproduction, 44(4), 620–4. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2043732*
37. *Davis, G. H., McEwan, J. C., Fennessy, P. F., Dodds, K. G., McNatty, K. P., & O, W. S. (1992). Infertility due to bilateral ovarian hypoplasia in sheep homozygous*

(FecXI FecXI) for the Inverdale prolificacy gene located on the X chromosome. Biology of Reproduction, 46(4), 636–40. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1533540

38. *Davis, G. H., Montgomery, G. W., Allison, A. J., Kelly, R. W., & Bray, A. R. (1982). Segregation of a major gene influencing fecundity in progeny of Booroola sheep. New Zealand Journal of Agricultural Research, 25(4), 525–529. https://doi.org/10.1080/00288233.1982.10425216*
39. *Dickson, K. A., & Sanford, L. M. (2005). Breed diversity in FSH, LH and testosterone regulation of testicular function and in libido of young adult rams on the southeastern Canadian prairies. Small Ruminant Research, 56(1–3), 189–203. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2004.06.002*
40. *Dickson, L., Torres, G., D'Aubeterre, R., & García, O. (2004). Factores que influyen en el intervalo entre partos y la prolificidad de un hato de carneros Pelibuey en Venezuela. Revista Cubana de Ciencia Agrícola., 38(1), 13–17.*
41. *Dong, J., Albertini, D. F., Nishimori, K., Kumar, T. R., Lu, N., & Matzuk, M. M. (1996). Growth differentiation factor-9 is required during early ovarian folliculogenesis. Nature, 383(6600), 531–5. https://doi.org/10.1038/383531a0*
42. *Driancourt, M. A., Févre, J., Martal, J., & Al-Gubory, K. H. (2000). Control of ovarian follicular growth and maturation by the corpus luteum and the placenta during pregnancy in sheep. Journal of Reproduction and Fertility, 120(1), 151–8. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11006157*
43. *Driancourt, M. A., Gauld, I. K., Terqui, M., & Webb, R. (1986). Variations in patterns of follicle development in prolific breeds of sheep. Journal of Reproduction and Fertility, 78(2), 565–75. https://doi.org/10.1530/JRF.0.0780565*
44. *Driancourt, M. A., Webb, R., & Fry, R. C. (1991). Does follicular dominance occur in ewes? Reproduction, 93(1), 63–70. https://doi.org/10.1530/jrf.0.0930063*
45. *Driancourt, M., Gougeon, A., Royère, D., & Thibault, C. (1993). Reproduction in mammals and man. RHF Hunter.*
46. *Drouilhet, L., Lecerf, F., Bodin, L., Fabre, S., & Mulsant, P. (2009). Fine mapping of the FecL locus influencing prolificacy in Lacaune sheep. Animal Genetics, 40(6), 804–12. https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2009.01919.x*
47. *Duggavathi, R., Bartlewski, P. M., Agg, E., Flint, S., Barrett, D. M. W., & Rawlings, N. C. (2005). The Effect of the Manipulation of Follicle-Stimulating Hormone (FSH)-Peak Characteristics on Follicular Wave Dynamics in Sheep: Does an Ovarian-Independent Endogenous Rhythm in FSH Secretion Exist? Biology of Reproduction, 72(6), 1466–1474. https://doi.org/10.1095/biolreprod.104.038588*
48. *Duggavathi, R., Bartlewski, P. M., Barrett, D. M. W., & Rawlings, N. C. (2003). Use of high-resolution transrectal ultrasonography to assess changes in numbers of small ovarian antral follicles and their relationships to the emergence of follicular waves in cyclic ewes. Theriogenology, 60(3), 495–510. https://doi.org/10.1016/S0093-691X(03)00041-4*
49. *Fabre, S., Pierre, A., Mulsant, P., Bodin, L., Di Pasquale, E., Persani, L., … Hsueh, null. (2006). Regulation of ovulation rate in mammals: contribution of sheep genetic models. Reproductive Biology and Endocrinology, 4(1), 20. https://doi.org/10.1186/1477-7827-4-20*
50. *Fahmy, M. (1986). Preliminary Results on Fertility, Prolificacy, Lamb Production, and Carcass Traits of Romanov Sheep in Canada. 3rd World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Retrieved from*

http://digitalcommons.unl.edu/wcgalp/60

51. *Flint, A. P., & Sheldrick, E. L. (1986). Ovarian oxytocin and the maternal recognition of pregnancy. Journal of Reproduction and Fertility, 76(2), 831–9. https://doi.org/10.1530/JRF.0.0760831*
52. *Fogarty, N. M. (2009). A review of the effects of the Booroola gene (FecB) on sheep production. Small Ruminant Research, 85(2–3), 75–84. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2009.08.003*
53. *Fourie, P. ., Schwalbach, L. ., Neser, F. W. ., & Van der Westhuizen, C. (2004). Scrotal, testicular and semen characteristics of young Dorper rams managed under intensive and extensive conditions. Small Ruminant Research, 54(1–2), 53–59. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2003.10.011*
54. *Galloway, S. M., Gregan, S. M., Wilson, T., Mcnatty, K. P., & Juengel, J. L. (2002). Bmp15 mutations and o v arian function, 191, 15–18.*
55. *Galloway, S. M., Gregan, S. M., Wilson, T., McNatty, K. P., Juengel, J. L., Ritvos, O., & Davis, G. H. (2002). Bmp15 mutations and ovarian function. In Molecular and Cellular Endocrinology (Vol. 191, pp. 15–18). https://doi.org/10.1016/S0303-7207(02)00047-3*
56. *Galloway, S. M., McNatty, K. P., Cambridge, L. M., Laitinen, M. P., Juengel, J. L., Jokiranta, T. S., … Ritvos, O. (2000). Mutations in an oocyte-derived growth factor gene (BMP15) cause increased ovulation rate and infertility in a dosage-sensitive manner. Nature Genetics. https://doi.org/10.1038/77033*
57. *Gao, L. (2007). Polymorphisms of TGF-b1 and GDF9 genes and their relationships with prolificacy in Small Tail Han sheep. Retrieved from https://scholar.google.es/scholar?q=Polymorphisms+of+TGF-b1+and+GDF9+genes+and+their+relationships+with+prolificacy+in+Small+Tail+Han+sheep&btnG=&hl=en&as_sdt=0%2C5*
58. *Gibbons, J. R., Kot, K., Thomas, D. L., Wiltbank, M., & Ginther, O. J. (1999). Follicular and fsh dynamics in ewes with a history of high and low ovulation rates. Theriogenology, 52(6), 1005–1020. https://doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00191-0*
59. *González, C. A., Grajales, H. A., Manrique, C., & Téllez, G. (2011). Gestión de la información en los sistemas de producción animal -una mirada al caso de la ovino-caprinocultura-. Rev.Med.Vet.Zoot, 58(Iii), 176–193. Retrieved from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-29522011000300005&lang=es*
60. *Guigon, C. J., & Magre, S. (2006). Contribution of germ cells to the differentiation and maturation of the ovary: insights from models of germ cell depletion. Biology of Reproduction, 74(3), 450–8. https://doi.org/10.1095/biolreprod.105.047134*
61. *Hanrahan, J. P. (2003). 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). Biology of Reproduction, 70(4), 900–909. https://doi.org/10.1095/biolreprod.103.023093*
62. *Hanrahan, J. P., Gregan, S. M., Mulsant, P., Mullen, M., Davis, G. H., Powell, R., & Galloway, S. M. (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). Biology of Reproduction, 70(4), 900–9. https://doi.org/10.1095/biolreprod.103.023093*
63. *Henderson, K. M., Kieboom, L. E., McNatty, K. P., Lun, S., & Heath, D. (1985). Gonadotrophin-stimulated cyclic AMP production by granulosa cells from Booroola x Romney ewes with and without a fecundity gene. Journal of Reproduction and*

Fertility, 75(1), 111–20. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2993605

64. *Henderson, K. M., McNatty, K. P., O'Keeffe, L. E., Lun, S., Heath, D. A., & Prisk, M. D. (1987). Differences in gonadotrophin-stimulated cyclic AMP production by granulosa cells from booroola x merino ewes which were homozygous, heterozygous or non-carriers of a fecundity gene influencing their ovulation rate. Journal of Reproduction and Fertility, 81(2), 395–402. https://doi.org/10.1530/JRF.0.0810395*
65. *Juengel, J. L., Bodensteiner, K. J., Heath, D. A., Hudson, N. L., Moeller, C. L., Smith, P., … Mcnatty, K. P. (2004). Physiology of GDF9 and BMP15 signalling molecules. Animal Reproduction Science, 8283, 447–460. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.04.021*
66. *Juengel, J. L., Hudson, N. L., Heath, D. A., Smith, P., Reader, K. L., Lawrence, S. B., … McNatty, K. P. (2002). Growth differentiation factor 9 and bone morphogenetic protein 15 are essential for ovarian follicular development in sheep. Biology of Reproduction, 67(6), 1777–89. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12444053*
67. *Knickerbocker, J. J., Wiltbank, M. C., & Niswender, G. D. (1988). Mechanisms of luteolysis in domestic livestock. Domestic Animal Endocrinology, 5(2), 91–107. https://doi.org/10.1016/0739-7240(88)90011-2*
68. *Kumar, S., Mishra, A. K., Kolte, A. P., Dash, S. K., & Karim, S. A. (2008). Screening for Booroola (FecB) and Galway (FecXG) mutations in Indian sheep. Small Ruminant Research, 80(1–3), 57–61. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2008.09.007*
69. *Liandris, E., Kominakis, A., Andreadou, M., Kapeoldassi, K., Chadio, S., Tsiligianni, T., … Ikonomopoulos, I. (2012). Associations between single nucleotide polymorphisms of GDF9 and BMP15 genes and litter size in two dairy sheep breeds of Greece. Small Ruminant Research, 107(1), 16–21. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.04.004*
70. *Liao, W. X., Moore, R. K., Otsuka, F., & Shimasaki, S. (2003). Effect of intracellular interactions on the processing and secretion of bone morphogenetic protein-15 (BMP-15) and growth and differentiation factor-9. Implication of the aberrant ovarian phenotype of BMP-15 mutant sheep. The Journal of Biological Chemistry, 278(6), 3713–9. https://doi.org/10.1074/jbc.M210598200*
71. *LIU, Q., PAN, Z., WANG, X., HU, W., DI, R., YAO, Y., & CHU, M. (2014). Progress on major genes for high fecundity in ewes. Frontiers of Agricultural Science and Engineering, 1(4), 282. https://doi.org/10.15302/J-FASE-2014042*
72. *Lozano, H. (2015). Study of sexual characteristics of male and female sheep under high altitude conditions in Colombia. University of Namur. Retrieved from https://researchportal.unamur.be/en/studentTheses/study-of-sexual-characteristics-of-male-and-female-sheep-under-hi*
73. *Luna Palomera, C., & Alonso Morales, R. A. (2014). Genes con efecto mayor sobre la fertilidad de ovejas. Revisión. Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias, 5(1), 107–130.*
74. *Lundy, T., Smith, P., O'Connell, A., Hudson, N. L., & McNatty, K. P. (1999). Populations of granulosa cells in small follicles of the sheep ovary. Journal of Reproduction and Fertility, 115(2), 251–62. https://doi.org/10.1530/JRF.0.1150251*
75. *Mahdavi, M., Nanekarani, S., & Hosseini, S. D. (2014). Mutation in BMPR-IB gene*

is associated with litter size in Iranian Kalehkoohi sheep. Animal Reproduction Science, 147(3–4), 93–98. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014.04.003

76. *Mann, G. ., Payne, J. ., & Lamming, G. . (2001). Hormonal regulation of oxytocin-induced prostaglandin F2α secretion by the bovine and ovine uterus in vivo. Domestic Animal Endocrinology, 21(2), 127–141. https://doi.org/10.1016/S0739-7240(01)00105-9*
77. *Martinez, L., & Malagón, S. (2005). CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y GENÉTICA DEL OVINO CRIOLLO COLOMBIANO. Archivos de Zootecnia, 54, 341–348.*
78. *Martínez Royo, A. (2011). Estudio de genes con influencia en prolificidad y estacionalidad reproductiva en la raza ovina rasa aragonesa. TDX (Tesis Doctorals En Xarxa).*
79. *Mazerbourg, S., Klein, C., Roh, J., Kaivo-Oja, N., Mottershead, D. G., Korchynskyi, O., … Hsueh, A. J. W. (2004). Growth differentiation factor-9 signaling is mediated by the type I receptor, activin receptor-like kinase 5. Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.), 18(3), 653–65. https://doi.org/10.1210/me.2003-0393*
80. *McNatty, K. P., Galloway, S. M., Wilson, T., Smith, P., Hudson, N. L., O'Connell, A., … Juengel, J. L. (2005). Physiological effects of major genes affecting ovulation rate in sheep. Genetics, Selection, Evolution : GSE, 37 Suppl 1, S25-38. https://doi.org/10.1051/gse:2004029*
81. *McNatty, K. P., & Henderson, K. M. (1987). Gonadotrophins, fecundity genes and ovarian follicular function. Journal of Steroid Biochemistry, 27(1–3), 365–73. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2826892*
82. *McNatty, K. P., Juengel, J. L., Reader, K. L., Lun, S., Myllymaa, S., Lawrence, S. B., … Laitinen, M. P. E. (2005). Bone morphogenetic protein 15 and growth differentiation factor 9 co-operate to regulate granulosa cell function in ruminants. Reproduction, 129(4), 481–487. https://doi.org/10.1530/rep.1.00517*
83. *McNatty, K. P., Juengel, J. L., Wilson, T., Galloway, S. M., Davis, G. H., Hudson, N. L., … Ritvos, O. (2003). Oocyte-derived growth factors and ovulation rate in sheep. Reproduction (Cambridge, England) Supplement, 61, 339–51. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14635946*
84. *McNatty, K. P., Moore, L. G., Hudson, N. L., Quirke, L. D., Lawrence, S. B., Reader, K., … Juengel, J. L. (2004). The oocyte and its role in regulating ovulation rate: a new paradigm in reproductive biology. Reproduction (Cambridge, England), 128(4), 379–86. https://doi.org/10.1530/rep.1.00280*
85. *Mcnatty, K. P., Smith, P., Moore, L. G., Reader, K., Lun, S., Hanrahan, J. P., … Juengel, J. L. (2005). Oocyte-expressed genes affecting ovulation rate. Molecular and Cellular Endocrinology, 234, 57–66. https://doi.org/10.1016/j.mce.2004.08.013*
86. *Melo, E. O., Silva, B. D. M., Castro, E. A., Silva, T. A. S. N., Paiva, S. R., Sartori, R., … Neves, J. P. (2008). A Novel Mutation in the Growth and Differentiation Factor 9 (GDF9) Gene Is Associated, in Homozygosis, with Increased Ovulation Rate in Santa Ines Sheep. Biology of Reproduction, 78(Suppl_1), 141–141. https://doi.org/10.1093/biolreprod/78.s1.141b*
87. *Micevych, P., Bondar, G., & Kuo, J. (2010). Estrogen Actions on Neuroendocrine Glia. Neuroendocrinology, 91(3), 211–222. https://doi.org/10.1159/000289568*
88. *Miyazono, K., Maeda, S., Imamura, T., Miyazawa, K., Shinozaki, M., Hara, T., … al., et. (2005). BMP receptor signaling: Transcriptional targets, regulation of signals, and signaling cross-talk. Cytokine & Growth Factor Reviews, 16(3), 251–263. https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2005.01.009*

89. *Monteagudo, L. V., Ponz, R., Tejedor, M. T., Laviña, A., & Sierra, I. (2009). A 17bp deletion in the Bone Morphogenetic Protein 15 (BMP15) gene is associated to increased prolificacy in the Rasa Aragonesa sheep breed. Animal Reproduction Science, 110(1–2), 139–146. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.01.005*
90. *Montes, D., Moreno, J., Hurtado, L., & Ramirez, R. (2013). Caracterización faneróptica y morfológica de la hembra ovina de pelo criollo (camura) colombiana, en la sub región sabanas y golfo de morrosquillo departamento de sucre, 5(1), 104–115.*
91. *Montgomery, G., McNatty, K., & Davis, G. (1992). Physiology and molecular genetics of mutations that increase ovulation rate in sheep. Endocrine Reviews. Retrieved from http://press.endocrine.org/doi/abs/10.1210/edrv-13-2-309*
92. *Montgomery, G. W., Galloway, S. M., Davis, G. H., & McNatty, K. P. (2001). Genes controlling ovulation rate in sheep. Reproduction, 121(6), 843–852. https://doi.org/10.1530/reprod/121.6.843*
93. *Moore, R. K., Otsuka, F., & Shimasaki, S. (2003). Molecular basis of bone morphogenetic protein-15 signaling in granulosa cells. The Journal of Biological Chemistry, 278(1), 304–10. https://doi.org/10.1074/jbc.M207362200*
94. *Moore, R. K., & Shimasaki, S. (2005). Molecular biology and physiological role of the oocyte factor, BMP-15. Molecular and Cellular Endocrinology, 234(1), 67–73. https://doi.org/10.1016/j.mce.2004.10.012*
95. *Moradband, F., Rahimi, G., & Gholizadeh, M. (2011). Association of Polymorphisms in Fecundity Genes of GDF9, BMP15 and BMP15-1B with Litter Size in Iranian Baluchi Sheep. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 24(9), 1179–1183. https://doi.org/10.5713/ajas.2011.10453*
96. *Morand-Fehr, P., Boutonnet, J. P., Devendra, C., Dubeuf, J. P., Haenlein, G. F. W., Holst, P., … Capote, J. (2004). Strategy for goat farming in the 21st century. Small Ruminant Research, 51(2), 175–183. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2003.08.013*
97. *Morand-Fehr, P., & Boyazoglu, J. (1999). Present state and future outlook of the small ruminant sector. Small Ruminant Research, 34(3), 175–188. https://doi.org/10.1016/S0921-4488(99)00071-1*
98. *Moreno, D., & Grajales, H. (2014). Caracterización del proceso administrativo y de mercado en los sistemas ovinos del trópico alto colombiano. Rev Cienc Anim, (7), 85–98.*
99. *Mulsant, P., Lecerf, F., Fabre, S., Schibler, L., Monget, P., Lanneluc, I., … Elsen, J.-M. M. (2001). Mutation in bone morphogenetic protein receptor-IB is associated with increased ovulation rate in Booroola Merino ewes. Proc Natl Acad Sci U S A, 98(9), 5104–5109. https://doi.org/10.1073/pnas.091577598.*
100. *Mulsant, P., Lecerf, F., Fabre, S., Schibler, L., Monget, P., Lanneluc, I., … Elsen, J. M. (2001). Mutation in bone morphogenetic protein receptor-IB is associated with increased ovulation rate in Booroola Mérino ewes. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 98(9), 5104–9. https://doi.org/10.1073/pnas.091577598*
101. *Mulsant, P., Lecerf, F., Fabre, S., Schibler, L., Monget, P., Lanneluc, I., … Elsen, J. M. (2001). Mutation in bone morphogenetic protein receptor-IB is associated with increased ovulation rate in Booroola Mérino ewes. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 98(9), 5104–9. https://doi.org/10.1073/pnas.091577598*

102. Muñoz, R., & Jurado, J. J. (2012). Búsqueda de indicios de un gen mayor para prolificidad en cuatro razas ovinas españolas. ITEA Informacion Tecnica Economica Agraria, 108(4), 537–545.

103. Musthafa, M. M., & Marikar, F. M. M. T. (2014). An overview of major Genes Affecting Prolificacy in Sheep and Related Mechanisms. Iranian Journal of Applied Animal Science, 4(2), 239–246.

104. Nicol, L., Bishop, S. C., Pong-Wong, R., Bendixen, C., Holm, L.-E., Rhind, S. M., & McNeilly, A. S. (2009). Homozygosity for a single base-pair mutation in the oocyte-specific GDF9 gene results in sterility in Thoka sheep. Reproduction (Cambridge, England), 138(6), 921–33. https://doi.org/10.1530/REP-09-0193

105. Niswender, G. D., Juengel, J. L., Silva, P. J., Rollyson, M. K., & McIntush, E. W. (2000). Mechanisms Controlling the Function and Life Span of the Corpus Luteum. Physiological Reviews, 80(1).

106. Notter, D. . (2000). Effects of ewe age and season of lambing on prolificacy in US Targhee, Suffolk, and Polypay sheep. Small Ruminant Research, 38(1), 1–7. https://doi.org/10.1016/S0921-4488(00)00144-9

107. Notter, D. R. (2008). Genetic Aspects of Reproduction in Sheep. Reproduction in Domestic Animals, 43(SUPPL.2), 122–128. https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01151.x

108. Notter, D. R. (2012). Genetic improvement of reproductive efficiency of sheep and goats. Animal Reproduction Science, 130(3–4), 147–151. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.01.008

109. Otsuka, F., & 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. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 99(12), 8060–5. https://doi.org/10.1073/pnas.122066899

110. Otsuka, F., Yamamoto, S., Erickson, G. F., & Shimasaki, S. (2001). Bone morphogenetic protein-15 inhibits follicle-stimulating hormone (FSH) action by suppressing FSH receptor expression. The Journal of Biological Chemistry, 276(14), 11387–92. https://doi.org/10.1074/jbc.M010043200

111. Palomera, C. L., & Alonso, R. A. (2014). Genes con efecto mayor sobre la fertilidad de ovejas. Revisión. Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias, 5(1), 107–130.

112. Pangas, S. A., Li, X., Umans, L., Zwijsen, A., Huylebroeck, D., Gutierrez, C., … Matzuk, M. M. (2008). Conditional deletion of Smad1 and Smad5 in somatic cells of male and female gonads leads to metastatic tumor development in mice. Molecular and Cellular Biology, 28(1), 248–57. https://doi.org/10.1128/MCB.01404-07

113. Parra, R. I., Magaña, M. A., Duarte, J. H., & Téllez, G. (2015). Caracterización técnica y rentabilidad de granjas ovinas con visión empresarial del departamento del Tolima. Revista Colombiana de Ciencia Animal, 7(1).

114. Peacock, C. (2008). Dairy goat development in East Africa: A replicable model for smallholders? Small Ruminant Research, 77(2), 225–238. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2008.03.005

115. Petrovic, M., Caro-Petrovic, V., Ruzic-Muslic, D., Maksimovic, N., Ilic, Z., Milosevic, B., & Stojkovic, J. (2012). Some important factors affecting fertility in sheep. Biotechnology in Animal Husbandry, 28(3), 517–528. https://doi.org/10.2298/BAH1203517P

116. Piper, L., & Bindon, B. (1982). Genetic segregation for fecundity in

Booroola Merino sheep. Proceedings of the World Congress on. Retrieved from http://sci-hub.cc/https://publications.csiro.au/rpr/pub?list=BRO&pid=procite:57ea9d93-aec2-4204-b638-e2a7d4e5af62

117. *Piper, L., Bindon, B., & Davis, G. (1984). Single gene inheritance of the high litter size of the Booroola Merino. Genetics of Reproduction in Sheep/. Retrieved from http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201301472503*
118. *Polley, S., De, S., Brahma, B., Mukherjee, A., P.V., V., Batabyal, S., … Goswami, S. L. (2010). Polymorphism of BMPR1B, BMP15 and GDF9 fecundity genes in prolific Garole sheep. Tropical Animal Health and Production, 42(5), 985–993. https://doi.org/10.1007/s11250-009-9518-1*
119. *Rawlings, N. C., & Bartlewski, P. M. (2007). Clinical Reproductive Physiology of Ewes. In Current Therapy in Large Animal Theriogenology (pp. 642–649). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-072169323-1.50090-8*
120. *Rawlings, N. C., & Cook, S. J. (1993). LH secretion around the time of the preovulatory gonadotrophin surge in the ewe. Animal Reproduction Science, 30(4), 289–299. https://doi.org/10.1016/0378-4320(93)90079-7*
121. *Rawlings, N. C., Jeffcoate, I. A., & Rieger, D. L. (1984). The influence of estradiol-17β and progesterone on peripheral serum concentrations of luteinizing hormone and follicle stimulating hormone in the ovariectomized ewe. Theriogenology, 22(5), 473–488. https://doi.org/10.1016/0093-691X(84)90047-5*
122. *Rhind, S., Gittus, G., Potts, J., & Bishop, S. (2000). Reproductive performance of the Thoka Cheviot sheep. Proc. Brit. Soc. Anim. Sci. Retrieved from https://scholar.google.es/scholar?q=Reproductive+performance+of+the+Thoka+Cheviot+sheep&btnG=&hl=en&as_sdt=0%2C5*
123. *Roa, J., & Tena-Sempere, M. (2007). KiSS-1 system and reproduction: Comparative aspects and roles in the control of female gonadotropic axis in mammals. General and Comparative Endocrinology, 153(1–3), 132–140. https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2007.01.026*
124. *Roche, J. F. (1996). Control and regulation of folliculogenesis--a symposium in perspective. Reviews of Reproduction, 1(1), 19–27. https://doi.org/10.1530/ROR.0.0010019*
125. *Rosa, H. J. ., & Bryant, M. . (2003). Seasonality of reproduction in sheep. Small Ruminant Research, 48(3), 155–171. https://doi.org/10.1016/S0921-4488(03)00038-5*
126. *Roy, J., Polley, S., De, S., Mukherjee, A., Batabyal, S., Pan, S., … Goswami, S. L. (2011). Polymorphism of fecundity genes (FecB, FecX, and FecG) in the Indian Bonpala sheep. Animal Biotechnology, 22(3), 151–62. https://doi.org/10.1080/10495398.2011.589239*
127. *Scaramuzzi, R. J., Adams, N. R., Baird, D. T., Campbell, B. K., Downing, J. A., Findlay, J. K., … Tsonis, C. G. (1993). A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in the ewe. Reproduction, Fertility and Development, 5(5), 459. https://doi.org/10.1071/RD9930459*
128. *Scaramuzzi, R. J., Baird, D. T., Campbell, B. K., Driancourt, M.-A., Dupont, J., Fortune, J. E., … Webb, R. (2011). Regulation of folliculogenesis and the determination of ovulation rate in ruminants. Reproduction, Fertility and*

Development, 23(3), 444. https://doi.org/10.1071/RD09161

129. *Scaramuzzi, R. J., Brown, H. M., & Dupont, J. (2010). Nutritional and metabolic mechanisms in the ovary and their role in mediating the effects of diet on folliculogenesis: A perspective. Reproduction in Domestic Animals., 45, 32. Retrieved from http://eds.b.ebscohost.com.ezproxy.unal.edu.co/eds/detail/detail?vid=15&sid=0221ffad-41ee-4547-b1f8-42c47b8d63b2%40sessionmgr103&bdata=Jmxhbmc9ZXMmc2l0ZT1lZHMtbGl2ZQ%3D%3D#AN=edsgcl.232756999&db=edsgao*
130. *Scaramuzzi, R. J., Campbell, B. K., Downing, J. A., Kendall, N. R., Khalid, M., Muñoz-Gutiérrez, M., & Somchit, A. (2006). A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. Reproduction Nutrition Development, 46(4), 339–354. https://doi.org/10.1051/rnd:2006016*
131. *Segura, J., Sarmiento, L., & Rojas, O. (1996). Productivity of Pelibuey and Blackbelly ewes in Mexico under extensive management. Small Ruminant Research, 21, 57–62. Retrieved from http://ac.els-cdn.com.ezproxy.unal.edu.co/0921448895008144/1-s2.0-0921448895008144-main.pdf?_tid=c434cdd2-9a42-11e7-86fd-00000aacb35e&acdnat=1505499901_38cc5dcebedf862499d83921f6d838e7*
132. *Shabir, M., & Ganai, T. A. S. (2012). Nucleotide sequencing and DNA polymorphism studies of BMP 15 gene in Corriedale and local Kashmir valley sheep (Ovis aries). Gene (Vol. 499). https://doi.org/10.1016/j.gene.2012.02.019*
133. *Shackell, G. H., Hudson, N. L., Heath, D. A., Lun, S., Shaw, L., Condell, L., … McNatty, K. P. (1993). Plasma gonadotropin concentrations and ovarian characteristics in Inverdale ewes that are heterozygous for a major gene (FecX1) on the X chromosome that influences ovulation rate. Biology of Reproduction, 48(5), 1150–6. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8386945*
134. *Shackell, G., Hudson, N., Heath, D., & Lun, S. (1993). Plasma gonadotropin concentrations and ovarian characteristics in Inverdale ewes that are heterozygous for a major gene (FecX1) on the X chromosome. Biology of Reproduction, 48(5), 1150–1156. Retrieved from https://scholar.google.es/scholar?q=Plasma+gonadotropin+concentrations+and+ovarian+characteristics+in+Inverdale+ewes+that+are+heterozygous+for+a+major+gene+%28FecXI%29+on+the+x+chromosome+that+influences+ovulation+rate&btnG=&hl=en&as_sdt=0%2C5*
135. *Sheldrick, E. L., & Flint, A. P. (1985). Endocrine control of uterine oxytocin receptors in the ewe. The Journal of Endocrinology, 106(2), 249–58. https://doi.org/10.1677/JOE.0.1060249*
136. *Shimasaki, S., Moore, R. K., Otsuka, F., & Erickson, G. F. (2004). The Bone Morphogenetic Protein System In Mammalian Reproduction. Endocrine Reviews, 25(1), 72–101. https://doi.org/10.1210/er.2003-0007*
137. *Shimasaki, S., Zachow, R. J., Li, D., Kim, H., Iemura, S., Ueno, N., … Erickson, G. F. (1999). A functional bone morphogenetic protein system in the ovary. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 96(13), 7282–7. https://doi.org/10.1073/PNAS.96.13.7282*
138. *Sierra, I. A. (1992). La raza ovina rasa aragonesa: caracteres morfológicos y productivos. Animal Genetic Resources Information, 10, 57–65. https://doi.org/10.1017/S1014233900003291*

139. Silva, B. D. M., Castro, E. a., Souza, C. J. H., Paiva, S. R., Sartori, R., Franco, M. M., … Melo, E. O. (2011). A new polymorphism in the Growth and Differentiation Factor 9 (GDF9) gene is associated with increased ovulation rate and prolificacy in homozygous sheep. Animal Genetics, 42(1), 89–92. https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2010.02078.x

140. Smith, J. T., & Clarke, I. J. (2010). Seasonal breeding as a neuroendocrine model for puberty in sheep. Molecular and Cellular Endocrinology, 324(1–2), 102–109. https://doi.org/10.1016/j.mce.2010.03.007

141. Souza, C. J. H., Campbell, B. K., Webb, R., & Baird, D. T. (1997). Secretion of inhibin A and follicular dynamics throughout the estrous cycle in the sheep with and without the Booroola gene (Fec(B)). Endocrinology, 138(12), 5333–5340. https://doi.org/10.1210/en.138.12.5333

142. Souza, C. J. H., MacDougall, C., Campbell, B. K., McNeilly, A. S., & Baird, D. T. (2001). The Booroola (FecB) phenotype is associated with a mutation in the bone morphogenetic receptor type 1 B (BMPR1B) gene. Journal of Endocrinology, 169(2), 3–8. https://doi.org/10.1677/joe.0.169R001

143. Souza, C., MacDougall, C., MacDougall, C., Campbell, B., McNeilly, A., & Baird, D. (2001). The Booroola (FecB) phenotype is associated with a mutation in the bone morphogenetic receptor type 1 B (BMPR1B) gene. Journal of Endocrinology, 169(2), R1–R6. https://doi.org/10.1677/joe.0.169R001

144. Toosi, B. M., Seekallu, S. V., Barrett, D. M. W., Davies, K. L., Duggavathi, R., Bagu, E. T., & Rawlings, N. C. (2010). Characteristics of peaks in serum concentrations of follicle-stimulating hormone and estradiol, and follicular wave dynamics during the interovulatory interval in cyclic ewes. Theriogenology, 73(9), 1192–1201. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.11.005

145. Uribe-Velásquez, L., Correa-Orozco, A., & Osorio, J. (2009). Características del crecimiento folicular ovárico durante el ciclo estral en ovejas. Biosalud, 8(1), 117–131. Retrieved from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1657-95502009000100015

146. Våge, D. I., Husdal, M., Kent, M. P., Klemetsdal, G., Boman, I. A., Galloway, S., … Steine, T. (2013). A missense mutation in growth differentiation factor 9 (GDF9) is strongly associated with litter size in sheep. BMC Genetics, 14(1), 1. https://doi.org/10.1186/1471-2156-14-1

147. Viñoles, C. (2011). Regulación de la foliculogénesis y la tasa ovulatoria en la oveja. Spermova, 1(1), 92–94. Retrieved from http://www.reproduccionanimal.org/site3/files/revistas/spermova1/REGULACIN-DE-LA-FOLICULOGNESIS-Y-LA-TASA-OVULATORIA-EN-LA-OVEJAvioles2011-92-94.pdf

148. Viñoles, C., Harris, L. J., Forsberg, M., Banchero, G., & Rubianes, E. (2002). Ovarian follicular dynamics and endocrine profiles in Polwarth ewes with high and low body condition. Animal Science, 74(3), 539–545. https://doi.org/10.1017/S1357729800052693

149. Viñoles, C., Meikle, A., & Forsberg, M. (2004). Accuracy of evaluation of ovarian structures by transrectal ultrasonography in ewes. Animal Reproduction Science, 80(1), 69–79. https://doi.org/10.1016/S0378-4320(03)00141-6

150. Vitt, U. A., Mazerbourg, S., Klein, C., & Hsueh, A. J. W. (2002). Bone morphogenetic protein receptor type II is a receptor for growth differentiation

factor-9. Biology of Reproduction, 67(2), 473–80. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12135884

151. *Wang, J., Li, J., & Wei, J. (1990). Selection and improvement on Small Tailed Han sheep. China Sheep and Goat Farming, 1, 1–3. Retrieved from https://scholar.google.es/scholar?q=Selection+and+improvement+on+Small+Tailed+Han+sheep&btnG=&hl=en&as_sdt=0%2C5*
152. *Wilson, T., Wu, X. Y., Juengel, J. L., Ross, I. K., Lumsden, J. M., Lord, E. a, … 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. Biology of Reproduction, 64(4), 1225–1235. https://doi.org/10.1095/biolreprod64.4.1225*
153. *Xu, Y., Li, E., Han, Y., Chen, L., & Xie, Z. (2010). Differential expression of mRNAs encoding BMP/Smad pathway molecules in antral follicles of high- and low-fecundity Hu sheep. Animal Reproduction Science, 120(1), 47–55. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.02.009*
154. *Zamiri, M. J., Khalili, B., Jafaroghli, M., & Farshad, A. (2010). Seasonal variation in seminal parameters, testicular size, and plasma testosterone concentration in Iranian Moghani rams. Small Ruminant Research, 94(1–3), 132–136. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2010.07.013.*

2. Factores que influencian la prolificidad y estimación de parámetros genéticos en ovejas del Centro Agropecuario Marengo (CAM)

2.1 Introducción

La reproducción es un fenómeno fisiológico complejo y particular para cada especie animal y sus diferentes razas (Vasconcellos, Carrasco, & Valdés, 2008). El comportamiento reproductivo de los animales inicia desde la pubertad, con la primera ovulación, que constituye el primer ciclo estral, el cual es regulado por una secuencia rítmica intrínseca del eje hipotálamo-hipófisis-ovarios, que a su vez se encuentra modulado por factores ambientales, factores neuroendocrinos internos (Cunningham, 1998) y factores genéticos (Argüello-Hernández et al., 2014).

Muchas especies de mamíferos que incluyen primates, cabras, bovinos y ciervos, entre otros, normalmente tienen una tasa de ovulación (TO) de 1 y algunas veces 2 óvulos, mientras que, otras especies animales como los ratones, hámster, gatos, perros y porcinos la TO que varía entre 4 y 15 óvulos (McNatty et al., 2005). La variación de la TO entre especies permite valorar la necesidad de identificar un modelo animal con un amplio rango de TO, por lo que, en este contexto, la oveja (Ovis aries) proporciona un excelente modelo experimental, porque tiene más de 900 razas diferentes que varían ampliamente en sus características fisiológicas incluyendo la TO y la fecundidad (Terrill, 1979 en: Montgomery, Galloway, Davis, & McNatty, (2001). La tasa de ovulación (TO= número de oocitos liberados durante un ciclo reproductivo) está determinada por un intercambio complejo de señales endocrinas entre la glándula pituitaria y el ovario y por señales paracrinas y posiblemente autocrinas dentro de los folículos ováricos que involucran al oocito y sus células somáticas adyacentes (Dong et al., 1996; Galloway et al., 2000; Shimasaki, Moore, Otsuka, & Erickson, 2004).

La eficiencia biológica en ovejas con respecto a la producción de leche, carne y lana está condicionada por la fertilidad (Notter, 2000) por lo que sería importante incrementar la eficiencia reproductiva de los sistemas ovinos. El mantenimiento de altos niveles de fertilidad (definido como el porcentaje de hembras que paren) y altos niveles de fecundidad son críticos para una producción ovina eficiente. Sin embargo, el nivel óptimo de fecundidad en la mayoría de los casos está muy por debajo del nivel máximo alcanzable (Notter, 2008).

La prolificidad se puede definir como el número de crías nacidas por oveja por parto y puede variar en función de las condiciones ambientales (salud, manejo y nutrición) y del componente genético del animal. Entre los componentes ambientales se incluye la raza, la edad, estado fisiológico, estado sanitario, estado nutricional, balance energético de la dieta, factores socio-sexuales (manejo de las hembras con presencia o ausencia de machos y/o hembras reproductivamente activas), la temperatura, la humedad, el estrés y el manejo específico de cada explotación (Álvarez & Zarco, 2001; Martinez-Royo et al., 2008; Petrovic et al., 2012; Viñoles, Meikle, & Martin, 2009). Cabe destacar que la rentabilidad o eficiencia de una producción ovina está condicionada por la fertilidad, que a su vez se ve mediada por la prolificidad estableciendo el número de animales viables para su utilización, por lo que algunos autores consideran más importante la prolificidad que la ganancia de peso (Liandris et al., 2012; Petrovic et al., 2012).

Durante los últimos años, la cría de los pequeños rumiantes se ha extendido en los países en desarrollo en áreas donde son importantes la producción de subsistencia, la economía de trueque o la cultura comunitaria, rodeadas de comercios y economías de mercado limitados en organización, infraestructura y eficiencia, por lo que la ovino y caprinocultura juegan un papel cada vez más importante en este tipo de mercados (González, Grajales, Manrique, & Téllez, 2011). Sin embargo, el desarrollo tecnológico de la producción ovina en Colombia ha sido de bajo nivel, reflejado en la poca aplicación de nuevas metodologías y técnicas en áreas como la genética, en la que las investigaciones han sido limitadas al conocimiento de la capacidad productiva y a su utilización en cruzamientos (Martinez & Malagón, 2005; Montes, Moreno, Hurtado, & Ramirez, 2013). Debido a este tipo de situaciones es que la cadena de producción/consumo de la ovino-caprinocultura tanto en

Colombia como en varios países se encuentra débilmente organizada (González et al., 2011).
El sistema de producción ovina en Colombia presenta un elevado potencial debido a que ha estado ligado históricamente a tradiciones culturales en diferentes regiones del país, lo que en los últimos años ha despertado un gran interés para el mejoramiento del mismo (Parra, Magaña, Duarte, & Téllez, 2015).

En la mayoría de las producciones ovinas no se implementan planes de cruzamiento adecuados y se desconoce el verdadero potencial de los recursos animales y vegetales con los que se cuenta en cada región (Galeano & Manrique, 2010). Por ello, la implementación de programas de evaluación y mejoramiento genético animal podrían ayudar a determinar la proporción de la variación de una característica que es debida a efectos genéticos, teniendo en cuenta los factores de carácter no genético (medio ambiente, manejo, clima entre otros) que influyen en su expresión (Ruales España, Manrique Perdomo, & Ceron Muñoz, 2007).

Los parámetros genéticos básicos poblacionales con los cuales se basan los programas de mejoramiento animal son la heredabilidad, la repetibilidad y las correlaciones genéticas (Galeano & Manrique, 2010). La heredabilidad (h2), es considerada como el parámetro primordial para la selección, debido a que determina la cantidad de la variación total encontrada en una característica que es atribuida al efecto directo de los genes (variación aditiva), es decir, a la herencia (Dalton & Esaín Escobar, 1982; Ruales España et al., 2007). Por otro lado, la repetibilidad (r) permite determinar la correlación que existe entre medidas repetibles de una misma característica en un mismo animal (Falconer & Mackay, 1996; Quijano Bernal & Montoya Serna, 1998; Ruales España et al., 2007).

Algunos autores consideran que el éxito en la selección de las ovejas con respecto a su fertilidad dependerá en gran medida de la variabilidad genética de los componentes reproductivos (Petrovic et al., 2012). Sin embargo, factores como la ausencia de registros en las fincas, el desconocimiento de la importancia de estimar la heredabilidad y en general la ausencia de programas de mejoramiento genético en Colombia, hacen que se tenga una información muy incipiente en la estimación de parámetros genéticos de las poblaciones con las que se produce alimento de origen animal (Quijano & Echeverri, 2015). El objetivo

de este trabajo fue determinar los factores que influencian la prolificidad y estimar los parámetros genéticos en ovejas del Centro Agropecuario Marengo (CAM) ubicado en Mosquera (Cundinamarca).

2.2 Materiales y métodos

Se utilizaron los datos de 225 hembras de las razas Criolla colombiana, Romney Marsh, Hampshire y Corriedale, del Centro Agropecuario Marengo (CAM) del municipio de Mosquera, en el departamento de Cundinamarca, las cuales fueron mantenidas bajo las mismas condiciones de manejo durante todo el periodo. Para la determinación de los factores que afectan la prolificidad se consideró la información de 510 partos ocurridos entre los años 2011 a 2014, una vez se descartaron los datos de las hembras de un solo parto y el quinto parto. Para la estimación de los parámetros genéticos, el proceso de edición y depuración general de la información se realizó teniendo en cuenta que los animales contaran con registros de prolificidad y mínimo 2 partos por cada hembra con el fin de generar fuentes de variación para los análisis estadísticos por lo que finalmente fueron incluidas un total de 156 hembras y 452 partos.

Se calcularon las medias de prolificidad por raza y por número de parto, para observar las tendencias dentro de esta explotación, obteniendo 76 partos de la raza Corriedale, 135 partos del a raza Criolla colombiana, 130 partos de la raza Hampshire y 111 partos de la raza Romney Marsh. Según el número de partos fueron analizadas 157 hembras de primer parto, 154 de segundo parto, 95 de tercer parto y 46 de cuarto parto.

Para la estimación de parámetros genéticos se consideró que los factores de tipo no genético que influyeron en la expresión de la prolificidad para la región fueron el tipo racial y el número de parto. Los componentes de varianza requeridos para la estimación de los parámetros genéticos fueron obtenidos con el método de máxima verosimilitud restringida (Montoya Serna, 1998), empleando el procedimiento Mixed del programa estadístico Statistical Analysis Software, SAS 9.1. Los modelos mixtos incluyeron los efectos fijos de tipología racial y número de parto y como efectos aleatorios el efecto genético y ambiental

permanente del animal y el residual (ambiente temporal). El modelo estadístico propuesto para describir las observaciones fue

$$Y_{ijkl} = \mu + g_i + c_j + a_k + p_l + e_{ijkl}$$

donde:

Y_{ijkl} = Prolificidad
μ = Media poblacional
g_i= Efecto fijo del i-ésimo número de parto,
i: 1,…,4
c_j= Efecto fijo de la j-ésima tipología racial,
j: 1,…,4
a_k = Efecto genético aleatorio del k-ésimo animal,
l: 1,…,156
p_l= Efecto aleatorio del entorno permanente
e_{ijkl}= Efecto residual

Con los componentes de varianza genéticos y ambientales obtenidos se estimó la heredabilidad y repetibilidad de la prolificidad, entendidas como la fracción de la varianza fenotípica total que es debida a la variación genética del animal (varianza aditiva más no aditiva) y la proporción de la varianza fenotípica total, que es debida a la varianza genética más la varianza ambiental permanente, respectivamente (Montoya Serna, 1998; Ruales España et al., 2007).

2.3 Resultados y discusión

El promedio de prolificidad para las cuatro razas analizadas del rebaño del CAM, teniendo en cuenta los 452 partos, fue de 1.3252 ± 0.5053, menor que el 1.41 reportado para la raza Dorset (Casas, Freaking, & Leymaster, 2004), pero más elevado a los valores de reportes previos en las razas Corriedale (1.01), Texel (1.03) y Rasa Aragonesa (1.2) (Sierra 1992), todas estas criadas para la producción de carne.

En cuanto al comportamiento de la prolificidad respecto del número de parto de la hembra, se observó que la desviación estándar de cada grupo es inferior al 50% de su respectivo promedio, lo que indica que la variación dentro de cada agrupación es pequeña. La tendencia observada es que a medida que la hembra tiene más partos, su prolificidad va en aumento (Tabla 2-1).

Tabla 2-1: Prolificidad promedio con respecto al número de parto.

Parto	n	Prolificidad promedio	Desviación Estándar
1	214	1.21	0.46
2	154	1.32	0.51
3	96	1.43	0.52
4	46	1.52	0.55

Lo anterior concuerda con Buratovich, (2010) quien indicó que la cantidad de corderos nacidos vivos por oveja parida suele aumentar con la edad hasta los 5-6 años, para posteriormente descender al final de su vida útil. Los productores por lo general, realizan apareamientos a edades tempranas de las hembras con el fin de lograr una mayor eficiencia reproductiva a lo largo de la vida del animal (Buratovich, 2010), lo que permite que se utilicen animales que no han llegado a la madurez fisiológica y se encuentren aun en crecimiento, por lo que se genera una competencia por los nutrientes entre la gestación y los procesos de crecimiento, lo que puede ir en detrimento de los parámetros reproductivos, tales como la prolificidad. Según Dickson et al (2004) la edad de la madre mostró un efecto importante sobre la prolificidad, cuando se analizaron ovejas desde los 2 años hasta los 9 años de edad, ya que fue notorio el aumento de corderos nacidos en ovejas de edades intermedias, obteniéndose el mejor porcentaje de corderos destetados en ovejas de 4 años de edad (Dickson, Torres, D'Aubeterre, & García, 2004; George M. Sidwell, Everson, & Terrill, 1962) .

En el análisis del comportamiento de la prolificidad teniendo en cuenta la raza se observaron desviaciones estándar menores al 50% de los respectivos promedios, lo que indica que la variación dentro de las razas es pequeña. La raza Hampshire fue la que

presentó el promedio más alto en relación con las demás razas analizadas (1.4307 ± 0.5273), seguida de la raza Criolla (1.3629 ± 0.5545). Las razas Romney Marsh y Corriedale mostraron los promedios más bajos (1.2161 ± 0.4135 y 1.2368 ± 0.4580, respectivamente). Lo anterior destacó a la raza Criolla, ya que se ubica por encima de las dos anteriores, lo que permite demostrar una mejor adaptabilidad reproductiva que las razas Romney Marsh y Corriedale (Tabla 2-2).

Tabla 2-2: Prolificidad promedio con respecto a la raza.

RAZA	n	Prolificidad Promedio	Desviación Estándar
Corriedale	76	1.23	0.45
Criolla	135	1.36	0.55
Hampshire	130	1.43	0.52
Romney	111	1.21	0.41

Dado el alto número de razas de la especie ovina (Ovis aries) existen varios reportes con valores de prolificidad contrastantes. Por consiguiente, se han reportado razas con valores de prolificidad mayores a los encontrados en el presente estudio, como es el caso de las razas Small Tailed Han de China (2.65) (Chu et al., 2006; Wang, Li, & Wei, 1990), Belle-Ile de Francia (2.23) (LIU et al., 2014), Romanov (2.5) (Petrovic et al., 2012) y Finnish Landrance (2.3) (Banchero, Vázquez, Irarí, Ciappesoni, & Quintans, 2016). De igual modo esxisten reportes de razas con valores de prolificidad similares a los encontrados en el presente estudio (Tabla 2) como las razas Pramenka (1.1) (Petrovic et al., 2012), Rasa Aragonesa (1.2) (Monteagudo, Ponz, Tejedor, Laviña, & Sierra, 2009; Sierra, 1992) y Dorset (1.41) (Casas et al., 2004; Chu et al., 2011; Freetly & Leymaster, 2004).

La comparación del valor de prolificidad encontrado en este trabajo para la raza Hampshire (1.4307 ± 0.5273) fue inferior al reportado para la misma raza por G M Sidwell & Miller, (1971) (1.55). Los valores de prolificidad de este trabajo para la raza Corriedale (1.2368 ± 0.4580) son similares a los reportados para la misma raza por Banchero et al., (2016) (1.2) lo que contrasta con lo encontrado para la raza Romney Marsh (1.2161 ± 0.4135) que fue inferior al reportado por Bhuiyan & Curran, (1991) (1.56). Las diferencias observadas pueden ser debidas al manejo y a las condiciones ambientales propias de cada estudio.

Se destaca que la raza Hampshire presentó el mayor valor de prolificidad bajo las condiciones del CAM, por lo que se recomienda su utilización para mejorar la prolificidad en el rebaño. De igual modo, se destaca los valores de prolificidad encontrados en la raza Criolla, lo que denota su buena adaptabilidad reproductiva. Sin embargo, es necesario recalcar que estas dos razas fueron las que mayor número de partos aportaron al análisis.

Adicionalmente, tener en cuenta no solo la recomendación de recolectar los datos por periodos largos sino el registro del tipo de parto de las madres (sencillo, doble o triple), ya que se ha r encontrado que hembras nacidas de partos múltiples tienen una mayor probabilidad de presentar partos múltiples en su vida reproductiva (Sierra, 1979).

2.3.1 Parámetros genéticos

Se encontró que el único factor fijo que fue significativo para la prolificidad fue el número de parto ($P<0.01$), por lo cual se propuso un modelo alternativo excluyendo al factor raza.

En la Tabla 2-3 se presentan los componentes de varianza del animal, entorno permanente, residual, genético (varianza del animal – varianza del entorno permanente) y fenotípico (genético + residual). Los estimadores de heredabilidad y repetibilidad en las ovejas del CAM analizadas en el presente estudio se presentan en a Tabla 2.4. ejemplo.

Tabla 2-3: Componentes de varianza estimados para la característica prolificidad en las ovejas del CAM.

Variable	**Componentes de varianza**				
	Animal	**Entorno permanente**	**Residual**	**Genético**	**Fenotípico**
Prolificidad	0.06647	0.006069	0.17998	0.06016	0.24645

Tabla 2-4: Valores de heredabilidad (h^2) y repetibilidad (r) estimadas para la característica prolificidad de las ovejas del CAM.

Variable	**h2**	**r**
Prolificidad	0.244	0.270

De acuerdo con Quijano y Echeverri (2015), la heredabilidad de la característica Prolificidad encontrada en las ovejas del CAM (0.244 ± 0.04) se consideraría como media, lo que indica la contribución del efecto genético en la variación total de la característica. Es importante aclarar que la heredabilidad obtenida en este estudio fue calculada en el sentido amplio, debido a que los animales de donde se obtuvieron los datos son fundadores de la producción, por lo que no se encuentran emparentados.

No se encontraron reportes con el cálculo de la heredabilidad para la característica Prolificidad en ovinos, sin embargo, existen algunos reportes de heredabilidad de características como nacimientos múltiples en ovinos (h2=0.15) y número de nacidos en cerdos (h2=0.10), (Massey & Dale W. Vogt, 1993), por lo que se destaca el valor de heredabilidad encontrada para la característica Prolificidad en las ovejas del CAM (0.244 ± 0.04). Es de esperar que cuando se estime en un sentido estricto la heredabilidad para esta misma población, se obtenga un valor menor, dado que no se tiene la información genealógica de las hembras analizadas en el presente estudio, ya que corresponden a una población fundadora.

La heredabilidad encontrada para la característica Prolificidad en las ovejas del CAM es acorde con lo indicado por Quijano y Echeverry (2015), en relación con los valores bajos de heredabilidad y repetibilidad (5 – 20 %) que presentan los caracteres reproductivos (intervalo entre partos, días abiertos, prolificidad, entre otros) en animales de producción. Lo anterior contrasta con la heredabilidad y repetibilidad media (21-40%) que se encuentra para caracteres productivos (ganancia de peso, peso, producción de lana, entre otras) y los valores encontrados para caracteres de calidad de producto (características de canal, porcentaje de grasa y proteína, grasa, entre otros) que son altos (>40 %). Por lo anterior, es que no se deben esperar estimados altos de heredabilidad y repetibilidad para características reproductivas, acorde con los resultados del presente trabajo.

En cuanto a la repetibilidad en Colombia son pocos los reportes de estimaciones para características de importancia económica en ovinos (Quijano & Echeverri, 2015). Algunos ejemplos de características similares como número de corderos nacidos, tamaño de camada en cerdos y tamaño de camada en conejos presentan repetibilidad de 0.15, 0.27 y 0.26 respectivamente (Adeoye, Adeogun, & Akinokun, 2003; Pereira, 1999; Vásquez, Martínez, & Manrique, 2007). El valor de repetibilidad encontrado para la característica Prolificidad en las ovejas del CAM (0.270 ± 0.05) fue más alto que el reportado por Pereira, (1999) para la característica número de corderos nacidos (0.15).

Se debe tener en cuenta que puede haber diferencias debido a los diferentes métodos de cálculo de la heredabilidad y repetibilidad, el tamaño de la muestra, la varianza ambiental y la constitución genética de las poblaciones, entre otros, siendo factores que hacen que las estimaciones para una misma característica puedan ser diferentes (Quijano & Echeverri, 2015).

Los factores como la ausencia de registros en las producciones, el desconocimiento de la importancia de estimar parámetros como la heredabilidad y en general la ausencia de programas de mejoramiento genético en Colombia, hacen que se tenga información muy incipiente en la estimación de parámetros genéticos de la producción ovina.

2.4 Conclusiones y recomendaciones

La tendencia observada es que a medida que la hembra tiene más partos, su prolificidad va en aumento.

La raza Hampshire presentó el mayor valor de prolificidad bajo las condiciones del CAM, por lo que se recomienda su utilización para mejorar la prolificidad en el rebaño.

Los valores de prolificidad encontrados en la raza Criolla, destacan su buena adaptabilidad reproductiva.

La heredabilidad de la característica prolificidad encontrada en las ovejas del CAM (0.244 ± 0.04) es media.

El valor de repetibilidad encontrado para la característica Prolificidad en las ovejas del CAM (0.270 ± 0.05) fue alto comparado con un reporte previo.

Se recomienda estructurar un programa de mejoramiento genético en esta especie y se destaca la importancia de recolectar la información en registros productivos y genealógicos, que permitan estimar la heredabilidad en sentido estricto, tendencias y correlaciones genéticas, la depresión consanguínea y posibiliten una adecuada estrategia de apareamientos.

Los resultados de este trabajo, si bien pueden considerarse preliminares, aportan información de base para la gestión genética de esta población.

2.5 Bibliografía

1. Adeoye, A. A., Adeogun, I. O., & Akinokun, J. O. (2003). Repeatability of litter traits of Nigerian indigenous sows. *Livestock Research for Rural Development*, *15*(2). Retrieved from http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd15/2/adeo152.htm
2. Álvarez, L., & Zarco, L. A. (2001). Los fenómenos de bioestimulación sexual en ovejas y cabras. *Vet. Méx*, *32*(2).
3. Argüello-Hernández, J. H., Cortez-Romero, C., Rojas-Martínez, R. I., Segura-León, O. L., Herrera-Haro, J. G., Salazar-Ortiz, J., & Gallegos-Sanchez, J. (2014). Polimorfismos de la proteína 15 morfogénica ósea (bmp15) y su relación con el tipo de parto en la oveja pelibuey. *Agrociencia*, 53–69. Retrieved from http://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v48n1/v48n1a4.pdf
4. Banchero, G., Vázquez, A., Irarí, N., Ciappesoni, G., & Quintans, G. (2016). Estudio preliminar de la prolificidad y habilidad materna de seis biotipos ovinos en Uruguay TT - Preliminary Study of Prolificacy and Maternal Ability on Six Sheep Biotypes in Uruguay. *Agrociencia Uruguay*, *20*(1), 90–98. Retrieved from http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2301-15482016000100012&lang=pt
5. Bhuiyan, A. K. F. H., & Curran, M. K. (1991). Effect of age and year on the prolificacy of Romney Marsh sheep. *Bangladesh Journal of Animal Science*, *20*(1–2), 49–54. Retrieved from https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19930104354
6. Buratovich, O. (2010). Eficiencia reproductiva en ovinos: factores que la afectan, 163–166. Retrieved from http://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_ganaderia36_reproduccion_ovina.pdf
7. Casas, E., Freaking, B. A., & Leymaster, K. A. (2004). Evaluation of Dorset, Finnsheep, Romanov, Texel, and Montadale breeds of sheep: II. Reproduction of F1 ewes in fall mating seasons. *Journal of Animal Science*, *82*(5), 1280–1289.
8. Chu, M. X., Liu, Z. H., Jiao, C. L., He, Y. Q., Fang, L., Ye, S. C., … Wang, J. Y. (2006). Mutations in BMPR-IB and BMP-15 genes are associated with litter size in Small Tailed Han sheep (Ovis aries). *Journal of Animal Science*, *85*(3), 598–603. https://doi.org/10.2527/jas.2006-324
9. Chu, M. X., Yang, J., Feng, T., Cao, G. L., Fang, L., Di, R., … Li, N. (2011). GDF9 as a candidate gene for prolificacy of Small Tail Han sheep. *Molecular Biology Reports*, *38*(8), 5199–5204. https://doi.org/10.1007/s11033-010-0670-5
10. Cunningham, J. (1998). *Ciclos reproductivos en Fisiología Veterinaria*. *Ciclos reproductivos en Fisiología Veterinaria*. Retrieved from https://scholar.google.es/scholar?hl=en&q=Ciclos+reproductivos+en+Fisiología+Veterinaria&btnG=&as_sdt=1%2C5&as_sdtp=

11. Dalton, D. C., & Esaín Escobar, J. (1982). *Introducción a la genética animal práctica*. Abribia.
12. Dickson, L., Torres, G., D'Aubeterre, R., & García, O. (2004). Factores que influyen en el intervalo entre partos y la prolificidad de un hato de carneros Pelibuey en Venezuela. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola.*, *38*(1), 13–17.
13. Dong, J., Albertini, D. F., Nishimori, K., Kumar, T. R., Lu, N., & Matzuk, M. M. (1996). Growth differentiation factor-9 is required during early ovarian folliculogenesis. *Nature*, *383*(6600), 531–5. https://doi.org/10.1038/383531a0
14. Falconer, D. S. (Douglas S., & Mackay, T. F. C. (1996). *Introduction to quantitative genetics*. Longman.
15. Freetly, H., & Leymaster, K. (2004). Relationship between litter birth weight and litter size in six breeds of sheep. *Journal of Animal Science*, *82*(2), 612–618. Retrieved from https://dl.sciencesocieties.org/publications/jas/abstracts/82/2/0820612
16. Galeano, A. P., & Manrique, C. (2010). Estimación de parámetros genéticos para características productivas y reproductivas en los sistemas doble propósito del trópico bajo colombiano. *Revista de Medicina Veterinaria Y Zootecnia* , *57*, 119–131. Retrieved from http://www.scielo.org.co/pdf/rfmvz/v57n2/v57n2a04.pdf
17. Galloway, S. M., McNatty, K. P., Cambridge, L. M., Laitinen, M. P., Juengel, J. L., Jokiranta, T. S., … Ritvos, O. (2000). Mutations in an oocyte-derived growth factor gene (BMP15) cause increased ovulation rate and infertility in a dosage-sensitive manner. *Nature Genetics*. https://doi.org/10.1038/77033
18. González, C. A., Grajales, H. A., Manrique, C., & Téllez, G. (2011). Gestión de la información en los sistemas de producción animal -una mirada al caso de la ovino-caprinocultura-. *Rev.Med.Vet.Zoot*, *58*(Iii), 176–193. Retrieved from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-29522011000300005&lang=es
19. Liandris, E., Kominakis, A., Andreadou, M., Kapeoldassi, K., Chadio, S., Tsiligianni, T., … Ikonomopoulos, I. (2012). Associations between single nucleotide polymorphisms of GDF9 and BMP15 genes and litter size in two dairy sheep breeds of Greece. *Small Ruminant Research*, *107*(1), 16–21. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.04.004
20. LIU, Q., PAN, Z., WANG, X., HU, W., DI, R., YAO, Y., & CHU, M. (2014). Progress on major genes for high fecundity in ewes. *Frontiers of Agricultural Science and Engineering*, *1*(4), 282. https://doi.org/10.15302/J-FASE-2014042
21. Martinez-Royo, A., Jurado, J. J., Smulders, J. P., Martí, J. I., Alabart, J. L., Roche, A., … Calvo, J. H. (2008). A deletion in the bone morphogenetic protein 15 gene causes sterility and increased prolificacy in Rasa Aragonesa sheep. *Animal Genetics*, *39*(3), 294–7. https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2008.01707.x
22. Martinez, L., & Malagón, S. (2005). CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y GENÉTICA DEL OVINO CRIOLLO COLOMBIANO. *Archivos de Zootecnia*, *54*, 341–348.

23. Massey, J. W., & Dale W. Vogt. (1993). G2910 Heritability and Its Use in Animal Breeding | University of Missouri Extension, (October), 1–9. Retrieved from https://mospace.umsystem.edu/xmlui/bitstream/handle/10355/3614/HeritabilityUseAnimalBreeding.pdf?sequence=1&isAllowed=y
24. McNatty, K. P., Juengel, J. L., Reader, K. L., Lun, S., Myllymaa, S., Lawrence, S. B., … Laitinen, M. P. E. (2005). Bone morphogenetic protein 15 and growth differentiation factor 9 co-operate to regulate granulosa cell function in ruminants. *Reproduction*, *129*(4), 481–487. https://doi.org/10.1530/rep.1.00517
25. Monteagudo, L. V., Ponz, R., Tejedor, M. T., Laviña, A., & Sierra, I. (2009). A 17bp deletion in the Bone Morphogenetic Protein 15 (BMP15) gene is associated to increased prolificacy in the Rasa Aragonesa sheep breed. *Animal Reproduction Science*, *110*(1–2), 139–146. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.01.005
26. Montes, D., Moreno, J., Hurtado, L., & Ramirez, R. (2013). Caracterización faneróptica y morfológica de la hembra ovina de pelo criollo (camura) colombiana, en la sub región sabanas y golfo de morrosquillo departamento de sucre, *5*(1), 104–115.
27. Montgomery, G. W., Galloway, S. M., Davis, G. H., & McNatty, K. P. (2001). Genes controlling ovulation rate in sheep. *Reproduction*, *121*(6), 843–852. https://doi.org/10.1530/reprod/121.6.843
28. Montoya Serna, C. (1998). Estimación del Valor Genético para Producción de Leche a Través de un Modelo Lineal Mixto con Repetibilidad (Modelo Animal). *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, *51*(1), 123–145. Retrieved from http://revistas.unal.edu.co/index.php/refame/article/view/28859
29. Notter, D. . (2000). Effects of ewe age and season of lambing on prolificacy in US Targhee, Suffolk, and Polypay sheep. *Small Ruminant Research*, *38*(1), 1–7. https://doi.org/10.1016/S0921-4488(00)00144-9
30. Notter, D. R. (2008). Genetic Aspects of Reproduction in Sheep. *Reproduction in Domestic Animals*, *43*(SUPPL.2), 122–128. https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01151.x
31. Parra, R. I., Magaña, M. A., Duarte, J. H., & Téllez, G. (2015). Caracterización técnica y rentabilidad de granjas ovinas con visión empresarial del departamento del Tolima. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*, *7*(1).
32. Pereira, J. (1999). *Melhoramento genético aplicado à produção animal*. Retrieved from http://www.academia.edu/download/46179567/Melhoramento_Genetico_Aplicado_a_Producao_Animal_-_Jonas.pdf
33. Petrovic, M., Caro-Petrovic, V., Ruzic-Muslic, D., Maksimovic, N., Ilic, Z., Milosevic, B., & Stojkovic, J. (2012). Some important factors affecting fertility in sheep. *Biotechnology in Animal Husbandry*, *28*(3), 517–528. https://doi.org/10.2298/BAH1203517P

34. Quijano, J. H., & Echeverri, J. J. (2015). *Genética cuantitavica aplicada al mejoramiento animal* (1st ed.). Bogotá D.C, Colombia.
35. Quijano Bernal, J., & Montoya Serna, C. (1998). El modelo animal y su comparación con otras ayudas de selección, para producción de leche. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, *51*(2), 51–64. Retrieved from http://www.bdigital.unal.edu.co/30154/1/28917-104096-1-PB.pdf
36. Ruales España, F. R., Manrique Perdomo, C., & Ceron Muñoz, M. F. (2007). *Fundamentos en mejoramiento animal.* Vieco. Retrieved from https://books.google.com.co/books/about/Fundamentos_en_mejoramiento_animal.html?id=i8dUMwEACAAJ&redir_esc=y
37. Shimasaki, S., Moore, R. K., Otsuka, F., & Erickson, G. F. (2004). The Bone Morphogenetic Protein System In Mammalian Reproduction. *Endocrine Reviews*, *25*(1), 72–101. https://doi.org/10.1210/er.2003-0007
38. Sidwell, G. M., Everson, D. O., & Terrill, C. E. (1962). Fertility, Prolificacy and Lamb Livability of some Pure Breeds and their Crosses. *Journal of Animal Science*, *21*(4), 875. https://doi.org/10.2527/jas1962.214875x
39. Sidwell, G. M., & Miller, L. R. (1971). Production in some pure breeds of sheep and their crosses. I. Reproductive efficiency in ewes. *Journal of Animal Science*, *32*(6), 1084–1089. Retrieved from http://eds.b.ebscohost.com.ezproxy.unal.edu.co/eds/detail/detail?vid=5&sid=e69ce649-e881-4eb0-bc5f-52f3d5ee236e%40sessionmgr4006&bdata=Jmxhbmc9ZXMmc2l0ZT1lZHMtbGl2ZQ%3D%3D#AN=edsagr.US201302383649&db=edsagr
40. Sierra, I. 1979. Resultados del control del ciclo sexual mediante tratamientos hormonales en Ovejas cruzadas Romanov x Rasa Aragonesa. IV Jornadas Científicas de la SEOC. Zaragoza.
41. Sierra, I. A. (1992). La raza ovina rasa aragonesa: caracteres morfológicos y productivos. *Animal Genetic Resources Information*, *10*, 57–65. https://doi.org/10.1017/S1014233900003291
42. Vasconcellos, A., Carrasco, J., & Valdés, F. (2008). Estudio Histomorfológico Comparativo del Endometrio de Ovejas Prepúberes de Razas de Distinta Prolificidad. *International Journal of Morphology*, *26*(1), 143–148. https://doi.org/10.4067/S0717-95022008000100024
43. Vásquez, R., Martínez, R., & Manrique, C. (2007). Evaluación genética del comportamiento productivo y reproductivo en núcleos de conejos de las razas Nueva Zelanda y Chinchilla. *Corpoica. Ciencia Y Tecnología Agropecuaria*, *8*(1), 69–74. Retrieved from http://www.redalyc.org/html/4499/449945022009/
44. Viñoles, C., Meikle, A., & Martin, G. B. (2009). Short-term nutritional treatments grazing legumes or feeding concentrates increase prolificacy in Corriedale ewes. *Animal Reproduction Science*, *113*, 82–92. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.05.079

45. Wang, J., Li, J., & Wei, J. (1990). Selection and improvement on Small Tailed Han sheep. *China Sheep and Goat Farming*, *1*, 1–3. Retrieved from https://scholar.google.es/scholar?q=Selection+and+improvement+on+Small+Tailed+Han+sheep&btnG=&hl=en&as_sdt=0%2C5

3. Asociación de SNPs ubicados en los genes BMPR1B, BMP15 y GF9 en 4 razas del trópico alto colombiano

3.1 Introducción

La reproducción es un proceso fisiológico complejo que se encuentra modulado por factores ambientales, factores neuroendocrinos internos (Cunningham, 1998) y factores genéticos que constantemente interactúan sobre el animal para que éste muestre determinado fenotipo. Es un proceso importante desde el punto de vista productivo, siendo la base de la rentabilidad de los sistemas ovinos (Liandris et al., 2012; Petrovic et al., 2012).

La rentabilidad o eficiencia de la producción ovina está condicionada por la fertilidad, que a su vez se ve mediada por la prolificidad estableciendo el número de animales viables para su utilización, por lo que algunos autores consideran más importante la prolificidad que la ganancia de peso (Liandris et al., 2012; Petrovic et al., 2012). Por lo anterior, el aumento de la prolificidad es una vía para mejorar la producción, teniendo en cuenta los factores ambientales y los factores genéticos como la utilización de genes mayores con gran efecto sobre la tasa de ovulación (Argüello-Hernández et al., 2014).

Gran parte de los costos de producción de un sistema productivo está dado por el mantenimiento de las hembras a través de los diferentes periodos de producción, por lo que la hembra que produzca más de una cría por parto reducirá los costos de mantenimiento por animal nacido. En consecuencia, una alta prolificidad resultará en un mayor número de crías por hembra, reduciendo los costos de mantenimiento de la madre por unidad de producción y también obteniendo una más rápida expansión del sistema productivo (Alonso, 1981). Actualmente no existe un plan de mejoramiento ovino

organizado en Colombia. La mayoría de las granjas utilizan libre apareamiento con machos que se encuentran permanentemente dentro del grupo o grupos de hembras con un infrecuente control sobre la actividad reproductiva (Lozano, 2015).

Varios estudios genéticos en ovinos han establecido que la tasa de ovulación y el tamaño de camada o prolificidad, pueden ser regulados genéticamente por un grupo de diferentes genes, cada uno de ellos con un efecto menor, o alternativamente por la acción de genes simples con efecto mayor denominados genes mayores o de fecundidad (Fec) (Davis, 2004; Davis, 2005; LIU et al., 2014; McNatty & Henderson, 1987; Musthafa & Marikar, 2014; Notter, 2012). En este aspecto, es necesario destacar que los ovinos han sido considerados como una especie modelo para identificar genes involucrados en los mecanismos que controlan la tasa de ovulación (Fabre et al., 2006).

Se han identificado varios polimorfismos tipo SNP en estos tres genes, BMPR1B, BMP15 y GDF9, que se han podido asociar a un incremento en la tasa de ovulación (TO), pero no se ha podido detectar un cambio importante en los niveles de secreción de gonadotropinas (FSH, LH, estradiol, inhibina) (Montgomery, McNatty, & Davis, 1992; Shackell et al., 1993; Souza, Campbell, Webb, & Baird, 1997). Sin embargo, se reconoce que estos genes se encuentran involucrados en la misma vía biológica que controla la ovulación. Aunque aún no se ha esclarecido completamente el papel biológico de los genes BMP15 y GDF9 se reconoce que intervienen en la regulación de las funciones de las células de la granulosa y teca ovárica (Fabre et al., 2006; Mcnatty et al., 2005).

Los genes mayores con efecto sobre la reproducción vienen siendo analizados desde hace varios años para poder utilizarlos en pro del mejoramiento animal. Por ello, es importante desarrollar investigaciones teniendo en cuenta las diferentes razas, características reproductivas y agroclimáticas para validar su acción en las diferentes explotaciones de nuestro país. Lo anterior permitirá, su validación científica para que puedan ser usados en programas de mejoramiento genético y/o introgresión de alelos asociados positivamente con las características productivas de las poblaciones animales locales.

El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia de polimorfismos de nucleótido simple (SNP) de los genes BMPR1B, BMP15 y GDF9 y evaluar su asociación al parámetro prolificidad en hembras de las razas Romney Marsh, Corridale, Hampshire y Criolla ubicadas en el Centro Agropecuario Marengo de la Universidad Nacional de Colombia (CAM-UN).

3.2 Materiales y métodos

3.2.1 Población, toma de muestras y extracción de ADN

Se tomaron muestras de sangre de la vena yugular de 30 individuos de cada una de las cuatro razas ovinas, Criolla colombiana, Romney Marsh, Hampshire y Corriedale, (n=120), procedentes del Centro Agropecuario Marengo (CAM) localizado en el municipio de Mosquera, en el departamento de Cundinamarca. Se consideró la información de los partos ocurridos entre 2011 y 2014 para posterior análisis de asociación. Posteriormente, se realizó la extracción de ADN por medio del procedimiento de Salting-out (Miller, Dykes, & Polesky, 1988).

3.2.2 Marcadores utilizaos

Para el análisis fueron seleccionados, un marcador del gen BMP15 (BMP15-1), cuatro del gen BMPR1B (BMPR15-2, BMPR15-3, BMPR15-4 y BMPR15-7) y cinco del gen GDF9 (GDF9-1, GDF-2, GDF9-3, GDF-4 y GDF-5) (Tabla 3-1).

Tabla 3-1: Componentes de varianza estimados para la característica prolificidad en las ovejas del CAM.

Gen	Marcador	Forward (5'-3')	Reverse (5'-3')	Tamaño
BMP15	BMP15-1	ACTGGGCAATCATACCCTCATAC	TCTCAATTCTCCCAATCATGCCA	170 bp
BMPR1B	BMPR15-2	GACCCTCAAGATCTCCATTCTGG	TGAAGGCATTGCCCTGTTTTATG	151 bp
BMPR1B	BMPR15-3	AGGAAACCCTGAACATCGCTAAT	CAGTGTGTTGGGGGATTTAACAG	255 bp
BMPR1B	BMPR15-4	GCTTCCCAATTCTTTGCTACACA	TCAAATCATTGACAGGGCCAGTA	154 bp
BMPR1B	BMPR15-7	AGATTTCAACCAAAGCTAAGGTGC	ATCTTGAACTGGTCTTCAGCCTA	217 bp
GDF9	GDF9-1	CACTCAAAGGGCTATACTTGGCA	TGTGAGCTCCATGACTTTAGACT	229 bp
GDF9	GDF-2	AAGCTAAGTCTAAAGTCATGGAGC	GGTGTAAGATCGTCCCGTCAC	155 bp
GDF9	GDF9-3	GATCTTACACCCTCAGCAGCTT	TGGCCTCCCACAAGAGGAATA	268 bp
GDF9	GDF-4	ACTCTGGCTCTTTTATCACCAGG	TCTCAGGAACCTTTCCATCAGTG	162 bp
GDF9	GDF-5	GAAGAGCCGAACAGTGTTGTAGA	CTGAACCATTTAGGTGGGAGACA	204 bp

Tamaño = tamaño del amplificado.

3.2.3 Estandarización manual de la amplificación

Inicialmente se realizó la estandarización individual de la PCR y posteriormente la verificación del tamaño del producto de cada uno de los amplificados en geles de poliacrilamida (Tabla 3-2).

Tabla 3-2: Tamaños de los amplicones según marcador y condiciones de estandarización.

GEN	MARCADOR	TEMPERATURA HIBRIDACIÓN °C	TAMAÑO AMPLICON pb
BMP15	BMP15-1	60	170
BMPR15	BMPR15-3	60	255
	BMPR15-2	60	151
	BMPR15-4	60	154
	BMPR15-7	60	217
GDF9	GDF9-3	60	268
	GDF9-1	60	229
	GDF9-2	60	155
	GDF9-5	60	204
	GDF9-4	60	162

En las figuras 3-1 y 3-2 se presentan las fotografías de los geles de poliacrilamida indicando la verificación del tamaño de los amplicones para todos los marcadores utilizados en el presente estudio, (BMP15-1, BMPR15-3, BMPR15-2, BMPR15-4, BMPR15-7, GDF9-3, GDF9-1, GDF9-2, GDF9-5 y GDF9-4).

Figura 3-1: Gel de poliacrilamida indicando la verificación de los tamaños de los amplicones. En orden se observa, 1. Marcador de peso, 2. BMPR15-2, 3. BMPR15-3, 4. GDF9-1, 5. GDF9-3 y 6. BMPR15-7.

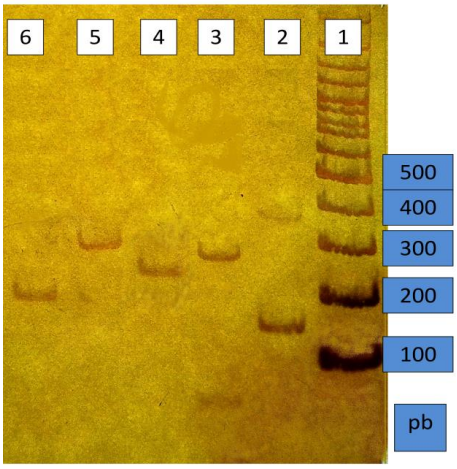
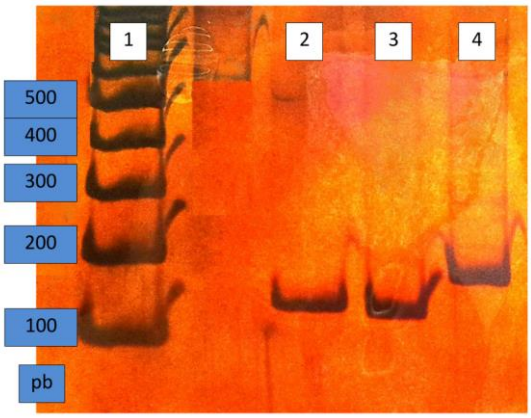


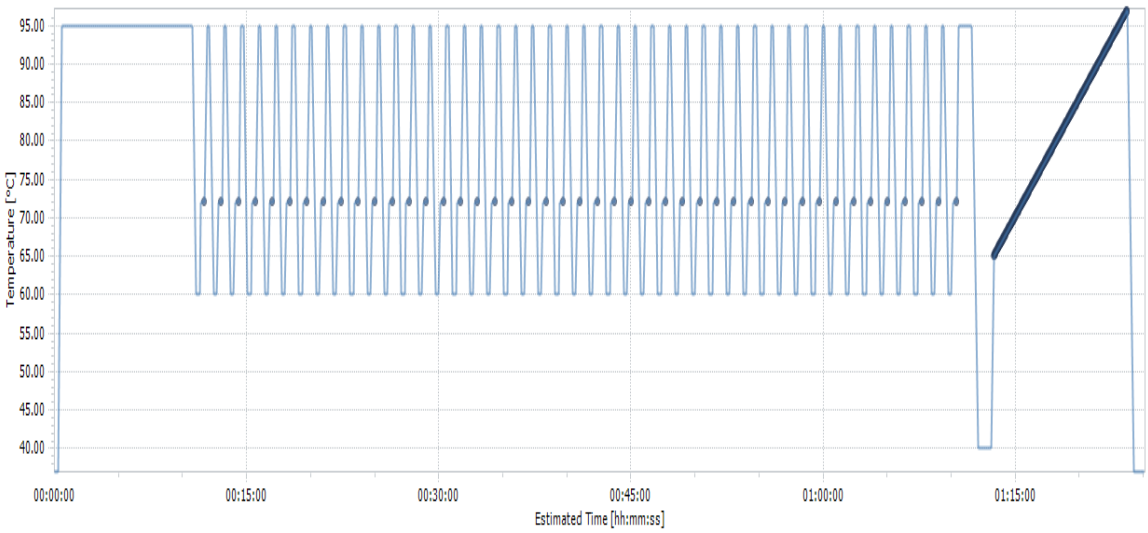
Figura 3-2: Gel de poliacrilamida indicando la verificación de los tamaños del amplicones. En orden se observa, 1. Marcador de peso, 2. GDF9-5¸3. GDF9-4 y 4. BMPR15-4.



3.2.4 Genotipificación por HRM

Para el proceso de genotipificación se realizó la amplificación de fragmentos mediante la técnica High Resolution Melting (HRM) en el instrumento LightCycler® 96 de Roche utilizando el protocolo base presentado en la figura 3-3.

Figura 3-3: Protocolo base empleado para la genotipificación mediante HRM.



El protocolo empleado está compuesto por una fase de pre-incubación, seguido de 45 ciclos de amplificación. Continúa luego una rampa de temperatura y un enfriamiento final de las muestras. En este protocolo se presenta emisión y percepción durante la extensión de cada uno de los ciclos de amplificación y de manera continua durante la rampa de temperatura (puntos y línea azul oscuro en la figura 3-3). Las condiciones de la PCR-HRM se presentan en la Tabla 3.3.

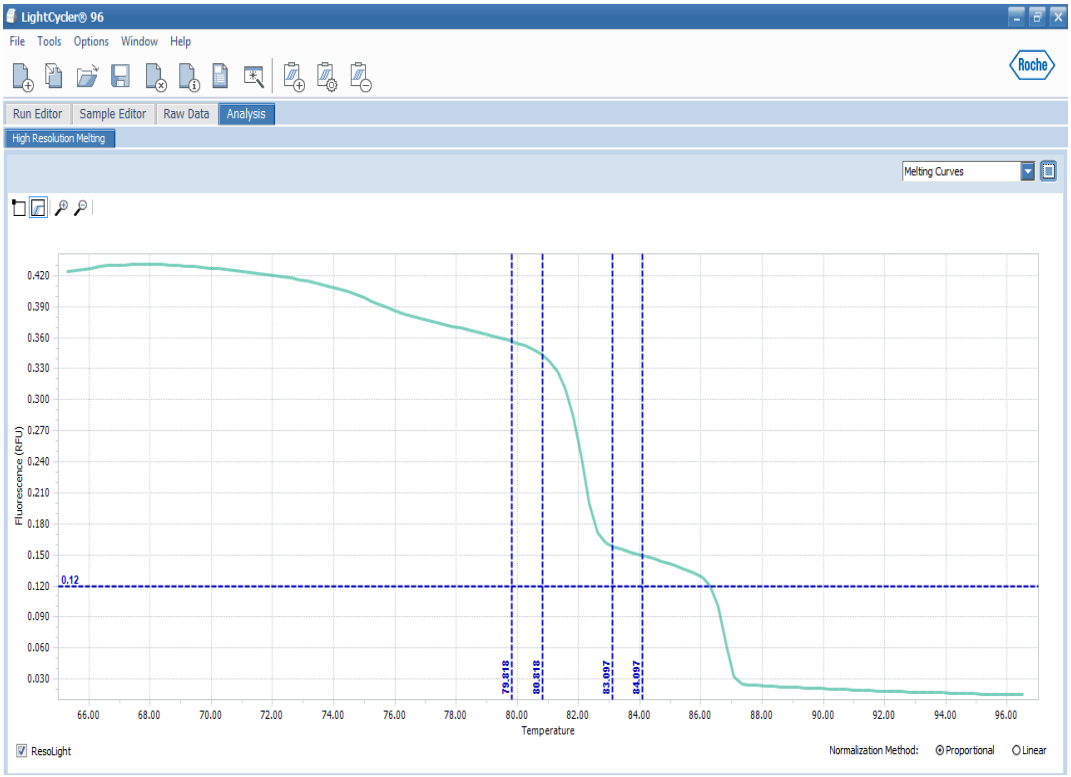
Tabla 3-3: Condiciones del protocolo base empleado para HRM-PCR.

FASE		CICLOS	TEMPERATURA ºC	TIEMPO Seg
PREINCUBACION		1	95	600
AMPLIFICACION EN TRES PASOS	DENATURACIÓN	45	95	10
	HIBRIDACIÓN		60	15
	EXTENSIÓN		72	15
HIGH RESOLUTION MELTING*		1	65	1
			97	1
ENFRIAMIENTO		1	37	INDEFINIDO

* Durante la rampa hay un incremento de 4,4 ºC por segundo.

La estandarización permitió que algunos marcadores pudieran ser corridos en multiplex, de a dos amplicones, debido a que tenían diferentes temperaturas melting, por lo que podían ser discriminados durante la rampa de temperatura, como se presenta en la figura 3-4. Por lo anterior se pudieron conformar tres dúplex (Dúplex 1:BMP15-1 y GDF9-3, Dúplex 2: BMPR15-4 y BMPR15-2 y Dúplex 3: GDF9-2 y GDF9-5).

Figura 3-4: Multiplex con curvas de amplificación diferente para cada amplicon HRM



3.2.5 Genotipificación de marcadores

La Tabla 3-4 muestra información relacionada con los SNPs reportados previamente, localizados en las regiones amplificadas de todos los marcadores utilizados en el presente trabajo. En el Anexo A se puede apreciar la secuencia de cada uno de los amplicones y la ubicación correspondiente de cada uno de los SNPs y la imagen de la lectura dada por el software del instrumento LightCycler® 96.

Tabla 3-4: Información de los SNPs utilizados en el presente trabajo.

Gen	Marcador	SNP	Nucleótido	Ubicación	Mutación	Aminoácido
BMP15	BMP15-1	rs402413016	X:50971083	E2	C/T	S/N
BMPR1B	BMPR15-2	rs429849190	6:29447945	5’ UTR	G/A	-
BMPR1B	BMPR15-2	rs402422707	6:29447979	5’ UTR	A/G	-
BMPR1B	BMPR15-3	rs418841713	6:29382188	E8	T/C	Q/R
BMPR1B	BMPR15-3	rs408447622	6:29382340	E8	C/T	R
BMPR1B	BMPR15-3	rs427897187	6:29382337	E8	C/T	T
BMPR1B	BMPR15-4	rs404709850	6:29362050	3’UTR	C/A	-
BMPR1B	BMPR15-4	rs418124937	6:29362062	3’UTR	G/A	-
BMPR1B	BMPR15-4	rs427046713	6:29362111	3’UTR	G/A	-
BMPR1B	BMPR15-7	rs413129951	6:29445923	E2	T/C	I/V
BMPR1B	BMPR15-7	rs426338048	6:29445934	E2	C/G	C/S
BMPR1B	BMPR15-7	rs402789684	6:29445937	E2	C/T	R/H
BMPR1B	BMPR15-7	rs412038619	6:29445938	E2	G/A	R/C
BMPR1B	BMPR15-7	rs424181501	6:29445964	E2	C/T	C/Y
BMPR1B	BMPR15-7	rs404698207	6:29446006	E2	A/G	L/P
GDF9	GDF9-1	rs398733804	5:41841177	E2	C/A	E/STOP
GDF9	GDF9-1	rs413900102	5:41841214	E2	G/A	G
GDF9	GDF9-1	rs425223128	5:41841272	E2	T/C	K/R
GDF9	GDF9-1	rs403536877	5:41841285	E2	C/T	V/M
GDF9	GDF9-2	rs426065119	5:41841354	E2	G/A	P/S
GDF9	GDF9-2	rs421019907	5:41841402	E2	C/T	V/I
GDF9	GDF9-2	rs399579080	5:41841418	E2	T/C	E
GDF9	GDF9-2	rs404376560	5:41841422	E2	G/T	S/Y
GDF9	GDF9-3	rs160076402	5:41841502	E2	T/C/G	L
GDF9	GDF9-3	rs415699275	5:41841525	E2	C/G	G/R
GDF9	GDF9-3	rs426882553	5:41841599	E2	A/G	L/S
GDF9	GDF9-3	rs193637058	5:41841646	E2	C/T	R
GDF9	GDF9-3	rs160076408	5:41841675	E2	T/C	K/E
GDF9	GDF9-4	rs160076413	5:41841919	E2	T/C	L
GDF9	GDF9-4	rs422644056	5:41841925	E2	A/G	V
GDF9	GDF9-5	rs410123449	5:41843258	E1	C/T	R/H

E= exón, SNP= Identificación específica de cada SNP.

3.2.6 Secuenciación y edición de secuencias

Posterior al proceso de asignación del genotipo en el LightCycler 96 se seleccionaron 2 animales por genotipo en cada marcador y se procedió a realizar, a cada uno, una nueva amplificación en monoplex, las cuales fueron enviadas para secuenciación al Instituto de Genética de la Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá. Posterior al análisis de los electroferogramas se realizó el alineamiento de las secuencias para determinar la presencia o ausencia de los SNPs propuestos en el presente estudio con la ayuda de los programas Chromas y BioEdit..

3.2.7 Análisis estadistico

Se establecieron las frecuencias genotípicas y alélicas de los polimorfismos mediante el procedimiento PROC FREQ de SAS y únicamente fueron incluidos en el análisis de asociación genotipo-fenotipo aquellos SNPs cuyo alelo menor, tenía una frecuencia superior al 10% (Curi et al., 2010; Lee et al., 2011). Para el análisis de asociación genotipo-fenotipo se utilizaron un total de 342 datos de partos de las hembras ovinas y la información del número de crías (NCRIAS) fue analizada, la cualfue analizada como variable binomial (0;1) donde NCRIAS = 1 indica que el parto fue doble y 0 indica parto simple. Se utilizó el procedimiento LOGISTIC del paquete estadístico SAS. El conjunto de datos incluyó como efectos fijos los SNPs incluidos (Tabla 3-5), la raza y el número de parto (Otto et al., 2007;Brunner et al., 2012) incluidos (Škrlep et al., 2010; Lindahl et al., 2004a y b;Otto et al., 2007; Brunner et al., 2012; Srikanchai et al., 2010; Chung y Davis, 2011; Curi et al.,2010; Casas et al., 2006; Café et al., 2010b; Allais et al., 2011; Papaleo et al., 2010; Li et al., 2010; Schenkel et al., 2006; Cui et al., 2006; Casas et al., 2005).

Tabla 3-5: Frecuencias alélicas y genotípicas por SNP

SNP	Alelos		Genotipos		
rs429849190 (A)	G	A	GG	G/A	AA
	0.75	0.25	0.50	0.50	0.00
rs402422707 (B)	A	G	AA	A/G	GG
	0.28	0.72	0.28	0.00	0.72
rs418841713 (C)	T	C	TT	C/T	CC
	0.63	0.38	0.25	0.75	0.00
rs408447622*	C	T	CC	C/T	TT
	0.96	0.05	0.91	0.09	0.00
rs427046713 (D)	G	A	GG	G/A	AA
	0.90	0.10	0.79	0.21	0.00
rs413129951*	T	C	TT	T/C	CC
	0.98	0.02	0.98	0.00	0.02
rs426338048 (E)	C	G	CC	C/G	GG
	0.90	0.10	0.81	0.19	0.00
rs412038619*	G	A	GG	G/A	AA
	0.98	0.02	0.98	0.00	0.02
rs421019907*	C	T	CC	C/T	TT
	0.91	0.09	0.91	0.00	0.09
rs399579080*	T	C	TT	T/C	CC
	0.91	0.09	0.91	0.00	0.09
rs193637058 (F)	C	T	CC	C/T	TT
	0.87	0.13	0.75	0.25	0.00
rs160076408 (G)	T	C	TT	T/C	CC
	0.21	0.79	0.00	0.42	0.58
rs160076413 (H)	T	C	TT	C/T	CC
	0.42	0.58	0.24	0.36	0.40
rs422644056 (I)	A	G	AA	G/A	GG
	0.58	0.42	0.36	0.44	0.20
rs410123449 (J)	C	T	CC	C/T	TT
	0.90	0.10	0.79	0.21	0.00

- Los SNPs eliminados de la asociación fenotipo-genotipo se marcaron con *.
- Los SNPs incluidos fueron identificados con letras, desde la A hasta la J.

3.3 Resultados

Luego de aplicar el procedimiento LOGISTIC se obtuvo que el modelo que mejor explicaba la probabilidad de tener parto simple o parto doble incluyó como factores significativos la información de los siguientes factores: los SNPs E, H, I (según Tabla 3.5) y la raza. Por consiguiente, fueron no significativos los factores: los SNPs A, B, C, D, F, G, J y el número de parto.

Las probabilidades de chi cuadrado para determinar si cada beta era significativo y podía ser introducido en el modelo se muestran en la Tabla 3.6. Se observa que en el paso 5 se introduce al modelo el efecto del marcador F (p=0.0465), pero en el paso 6 el mismo marcador es eliminado porque deja de ser significativo para el modelo (p=0.0507).

Tabla 3-1: Probabilidades de Chi cuadrado para validar la significancia de cada beta

Paso	Efecto		Número	Chi-cuadrado	Chi-cuadrado	Pr > ChiSq
	Introducido	Eliminado		de puntuación	de Wald	
1	E		1	7.8883		0.005
2	RAZA		2	11.2346		0.0105
3	H		3	10.9148		0.0043
4	I		4	6.765		0.0093
5	F		5	3.9636		0.0465
6		F	4		3.8176	0.0507

En la tabla 3-7 se observó la asociación del SNP E y su comparación de genotipos (CG vs CC) que fue altamente significativa (P<.0001), la asociación del SNP H comparando individuos homocigotos (CC vs TT) siendo significativa (P=0.0015) y la asociación del SNP I (AG vs AA) que también fue significativa (p=0.0117). Con respecto a la comparación de las razas se observa que la raza Corriedale y Hampshire comparadas con la Criolla tienen comportamientos diferentes (p=0.0158 y p=0.0003 respectivamente). Por otro lado, se observó que la raza Romney y Criolla se comportan de manera similar en el presente estudio (p=0.2094). Adicionalmente, el comportamiento del SNP H es similar tanto en el genotipo heterocigoto (TC) como en el homocigoto (TT) (P=0.0685).

Tabla 3-2: Comparaciones

Parámetro	Niveles enfrentados	Pr > ChiSq
E	CG vs CC	<.0001
H	CC vs TT	0.0015
H	TC vs TT	0.0685
I	AG vs AA	0.0117
RAZA	COR vs CRI	0.0158
RAZA	HAM vs CRI	0.0003
RAZA	ROM vs CRI	0.2094

*****CRI=Criolla, COR=Corriedale, HAM=Hampshire, ROM=Romney

Teniendo en cuenta las razones de probabilidad (Odds ratio) se puede decir que es 0.063 veces más probable que ocurra un parto doble cuando el animal es heterocigoto CG para el SNP E que cuando es homocigoto (CC). Es 0.152 más probable tener un parto doble cuando el animal es homocigoto CC para el SNP H que cuando es homocigoto (TT) y el heterocigoto (TC) es 0.358 veces más probable el parto doble que cuando es heterocigoto (TT). Es 5.2 veces más probable que el animal tenga parto doble cuando es heterocigoto (AG) que cuando es homocigoto (AA)para el SNP I.

Adicionalmente, es 5.4 veces más probable que una hembra de la raza Corriedale tenga un parto doble con respecto a una hembra de la raza Criolla. Es 11 veces más probable que una hembra Hampshire tenga un parto doble con respecto a una hembra de la raza Criolla. Es 2.4 veces más probable que una hembra Romney tenga un parto doble con respecto a una hembra de la raza Criolla (tabla 3.8)

Tabla 3-3: Razón de probabilidad (odds ratio)

Efecto	**Odds ratio**
E CG vs CC	0.063
H CC vs TT	0.152
H TC vs TT	0.358
I AG vs AA	5.208
RAZA COR vs CRI	5.487
RAZA HAM vs CRI	11.087
RAZA ROM vs CRI	2.42

*CRI=Criolla, COR=Corriedale, HAM=Hampshire, ROM=Romney

3.4 Discusión

3.4.1 Gen BMPR1B

Se encontraron 8 SNPs polimórficos dentro de este gen (rs429849190, rs402422707, rs418841713, rs408447622, rs413129951, rs412038619, rs427046713 y rs426338048). Los demás SNPs ubicados en este gen se encontraron monomórficos para la población evaluada (rs427897187, rs418124937, rs427046713, rs402789684, rs424181501 y rs404698207). La frecuencia el alelo menor de los SNPs rs408447622, rs413129951 y rs412038619 fue inferior al 10% por lo que no pudieron ser incluidos dentro del análisis de asociación. Se destaca la importancia de validar esta información en poblaciones más grandes, ya que en el presente estudio se evidenció una baja frecuencia en la población de hembras analizadas.

Los SNPs A, B, C, D y E del gen BMPR1B (rs429849190, rs402422707, rs418841713, rs427046713 y rs426338048 respectivamente) fueron incluidos para evaluar su asociación con la prolificidad de las hembras del CAM, donde el único que presento asociación fue el SNP E mostrando que un cambio en la posición E de un alelo G (Guanina) aumenta en 0.063 la probabilidad de tener un parto doble.

Se recalca que el SNP C que se ha catalogado como Booroola en la literatura (Davis et al., 2006; Debnath & Singh, 2016; LIU et al., 2014; Mulsant et al., 2001; Polley et al., 2010; Roy et al., 2011; Souza et al., 2001; Souza, MacDougall, Campbell, McNeilly, & Baird, 2001), se encontró polimórfico en la población estudiada. Sin embargo, solo se encontraron animales heterocigotos y no fue significativo para el modelo utilizado, por lo que sería interesante profundizar en la búsqueda de este alelo en la población ovina colombiana, para determinar si existen animales homocigotos para esta mutación y si en ese caso su efecto es significativo.

3.4.2 Gen BMP15

El único SNP (rs402413016) localizado dentro de este gen no fue polimórfico para la población evaluada. Pero, es importante tener en cuenta que en este gen se han reportado muchos polimorfismos tipo SNPs (Chu et al., 2007; Davis et al., 1992; Fabre et al., 2006; Galloway et al., 2000, 2002; McNatty et al., 2004; McNatty et al., 2005; Monteagudo, Ponz, Tejedor, Laviña, & Sierra, 2009; Montgomery, Galloway, Davis, & McNatty, 2001; Muñoz & Jurado, 2012; Palomera & Alonso, 2014; Scaramuzzi et al., 2011; Shackell et al., 1993) que sería interesantes evaluar en poblaciones ovina colombianas para conocer su frecuencia, asociación y su posible utilidad para planes de mejoramiento animal.

3.4.3 Gen GDF9

El Se encontraron 7 SNPs polimórficos dentro de este gen (rs404376560, rs399579080, rs193637058, rs160076408, rs160076413, rs422644056 y rs410123449). Los demás SNPs ubicados en este gen fueron monomórficos (rs398733804, rs413900102, rs425223128, rs403536877, rs426065119, rs404376560, rs160076402, rs415699275, rs426882553) en la población evaluada. Los SNPs rs421019907 y rs399579080 a pesar de ser polimórficos presentaron una baja frecuencia por lo que no pudieron ser incluidos dentro del estudio. No obstante, es importante validar esta información en poblaciones más grandes.

Los SNPs F, G, H, I y J del gen GDF9 (rs193637058, rs160076408, rs160076413, rs422644056 y rs410123449respectivamente) fueron incluidos para evaluar su asociación con la prolificidad de las hembras del CAM, evidenciando asociación de los SNPs H e I. El SNP H tuvo un comportamiento interesante, al presentar una mejor respuesta para los individuos heterocigotos (TC) con respecto a los homocigotos (TT), los cuales tienen 0.358 más probabilidades de presentar un parto doble. Lo anterior concuerda con varios autores que han reportado asociación de SNPs con la característica prolificidad, siendo los individuos heterocigotos los que exhiben mayor prolificidad (Hanrahan et al., 2004;

Liandris et al., 2012; McNatty et al., 2005; Moradband, Rahimi, & Gholizadeh, 2011; Muñoz & Jurado, 2012). El SNP H mostró un comportamiento similar al SNP FecGE encontrado por Silva et al., (2011) en la raza Santa Inés, ya que los animales homocigotos mutados CC tienen su función reproductiva normal.

Para el caso del SNP I se evidenció que los individuos heterocigotos (AG) tuvieron 5.2 veces más probabilidades de tener un parto doble que las hembras homocigotas (AA). Lo anterior, concuerda con lo reportado por varios autores en relación con la presencia de otros SNPs en este mismo gen que tienen efecto sobre la prolificidad en animales heterocigotos (Hanrahan et al., 2004; Liandris et al., 2012; McNatty et al., 2005; Moradband et al., 2011; Muñoz & Jurado, 2012; Palomera & Alonso, 2014). Es importante resaltar en este último caso que los genotipos encontrados fueron AG y AA evidenciando la ausencia de animales con el genotipo homocigoto mutado GG. Esto puede ser debido a que animales homocigotos mutados para el SNP I en este gen, pueden presentar un pobre desarrollo ovárico y por consiguiente, no poseer información de vida reproductiva, como lo evidencian otros trabajos (Ahlawat, Sharma, Roy, Tantia, & Prakash, 2015; Chu et al., 2011; Debnath & Singh, 2016; LIU et al., 2014; López-Ramírez, Magaña-Sevilla, Zamora-Bustillos, Ramón-Ugalde, & González-Mendoza, 2014; Muñoz & Jurado, 2012; Palomera & Alonso, 2014; Polley et al., 2010; Shabir, Ganai, Misra, Shah, & Ahmad, 2013).

3.5 Conclusiones

En la población de hembras del CAM se pudieron identificar animales portadores del SNP C que corresponde a la mutación Booroola.

El número de parto no tuvo efecto sobre la característica de prolificidad de las hembras del CAM evaluadas en el presente estudio.

Las hembras de la raza Hampshire fueron las que tuvieron mayor diferenciación, ya que tienen 11 veces más probabilidad de tener un parto doble que las hembras de la raza Criolla analizadas en este estudio.

Los SNPs A, B, C, D, F y G no presentaron asociación con la característica prolificidad de las hembras del CAM evaluadas en el presente estudio.

Los SNPs E, H e I ubicados en los genes BMPR1B (E) yGDF9 (H e I) tienen efecto sobre la característica prolificidad en las hembras del CAM evaluadas en el presente estudio.

El SNP I fue el que mostró el mayor efecto sobre la característica prolificidad, ya que los animales heterocigotos AG tuvieron 5.2 veces más probabilidad de presentar un parto doble con respecto a los animales homocigotos AA.

3.6 Bibliografía

1. Ahlawat, S., Sharma, R., Roy, M., Tantia, M., & Prakash, V. (2015). Association analysis of novel SNPs in BMPR1B, BMP15 and GDF9 genes with reproductive traits in Black Bengal goats. *Small Ruminant Research*, *132*, 92–98. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.10.010
2. Alonso, J. (1981). Manejo de la reproducción en el ovino. *Revista Ciencia Veterinaria*. Retrieved from https://scholar.google.es/scholar?q=Manejo+de+la+reproducción+en+el+ovino&btnG=&hl=en&as_sdt=0%2C5
3. Argüello-Hernández, J. H., Cortez-Romero, C., Rojas-Martínez, R. I., Segura-León, O. L., Herrera-Haro, J. G., Salazar-Ortiz, J., & Gallegos-Sanchez, J. (2014). Polimorfismos de la proteína 15 morfogénica ósea (bmp15) y su relación con el tipo de parto en la oveja pelibuey. *Agrociencia*, 53–69. Retrieved from http://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v48n1/v48n1a4.pdf
4. Chu, M. X., Liu, Z. H., Jiao, C. L., He, Y. Q., Fang, L., Ye, S. C., … Wang, J. Y. (2007). Mutations in BMPR-IB and BMP-15 genes are associated with litter size in Small Tailed Han sheep (Ovis aries). *Journal of Animal Science*, *85*(3), 598–603. https://doi.org/10.2527/jas.2006-324
5. Chu, M. X., Yang, J., Feng, T., Cao, G. L., Fang, L., Di, R., … Li, N. (2011). GDF9 as a candidate gene for prolificacy of Small Tail Han sheep. *Molecular Biology Reports*, *38*(8), 5199–5204. https://doi.org/10.1007/s11033-010-0670-5
6. Cunningham, J. (1998). *Ciclos reproductivos en Fisiología Veterinaria*. *Ciclos reproductivos en Fisiología Veterinaria*. Retrieved from https://scholar.google.es/scholar?hl=en&q=Ciclos+reproductivos+en+Fisiología+Veterinaria&btnG=&as_sdt=1%2C5&as_sdtp=
7. Curi, R. A., Artur, L., Chardulo, L., Giusti, J., Silveira, A. C., Martins, C. L., & De Oliveira, H. N. (2010). Assessment of GH1, CAPN1 and CAST polymorphisms as markers of carcass and meat traits in Bos indicus and Bos taurus–Bos indicus cross beef cattle. *MESC*, *86*, 915–920. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.07.016
8. Davis, G. . (2004). Fecundity genes in sheep. *Animal Reproduction Science*, *82*, 247–253. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.04.001
9. Davis, G. H. (2005). Major genes affecting ovulation rate in sheep. *Genetics Selection and Evolution*, *37*(1), 11–23. https://doi.org/10.1186/1297-9686-37-S1-S11
10. Davis, G. H., Balakrishnan, L., Ross, I. K., Wilson, T., Galloway, S. M., Lumsden, B. M., … Notter, D. R. (2006). Investigation of the Booroola (FecB) and Inverdale (FecXI) mutations in 21 prolific breeds and strains of sheep sampled in 13 countries. *Animal Reproduction Science*, *92*(1), 87–96. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2005.06.001

11. Davis, G. H., McEwan, J. C., Fennessy, P. F., Dodds, K. G., McNatty, K. P., & O, W. S. (1992). Infertility due to bilateral ovarian hypoplasia in sheep homozygous (FecXI FecXI) for the Inverdale prolificacy gene located on the X chromosome. *Biology of Reproduction*, *46*(4), 636–40. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1533540
12. Debnath, J., & Singh, R. V. (2016). Genetic polymorphism in fecundity gene (FecG) among Indian sheep breeds Balangir, Shahabadi and Bonpala. *Indian Journal of Animal Research*, *50*(6), 881–884. https://doi.org/10.18805/ijar.9648
13. Fabre, S., Pierre, A., Mulsant, P., Bodin, L., Di Pasquale, E., Persani, L., … Hsueh, null. (2006). Regulation of ovulation rate in mammals: contribution of sheep genetic models. *Reproductive Biology and Endocrinology*, *4*(1), 20. https://doi.org/10.1186/1477-7827-4-20
14. Galloway, S. M., Gregan, S. M., Wilson, T., McNatty, K. P., Juengel, J. L., Ritvos, O., & Davis, G. H. (2002). Bmp15 mutations and ovarian function. In *Molecular and Cellular Endocrinology* (Vol. 191, pp. 15–18). https://doi.org/10.1016/S0303-7207(02)00047-3
15. Galloway, S. M., McNatty, K. P., Cambridge, L. M., Laitinen, M. P., Juengel, J. L., Jokiranta, T. S., … Ritvos, O. (2000). Mutations in an oocyte-derived growth factor gene (BMP15) cause increased ovulation rate and infertility in a dosage-sensitive manner. *Nature Genetics*. https://doi.org/10.1038/77033
16. Hanrahan, J. P., Gregan, S. M., Mulsant, P., Mullen, M., Davis, G. H., Powell, R., & Galloway, S. M. (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). *Biology of Reproduction*, *70*(4), 900–9. https://doi.org/10.1095/biolreprod.103.023093
17. Lee, Y., Kwon, E., Cho, E., Park, D., Kim, B., Park, H., … Kim, C. (2011). *Association analysis of polymorphism in KIAA1717, HUMMLC2B, DECR1 and FTO genes with meat quality traits of the Berkshire breed*. *African Journal of Biotechnology* (Vol. 10). Academic Journals. Retrieved from https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/94193/83592
18. Liandris, E., Kominakis, A., Andreadou, M., Kapeoldassi, K., Chadio, S., Tsiligianni, T., … Ikonomopoulos, I. (2012). Associations between single nucleotide polymorphisms of GDF9 and BMP15 genes and litter size in two dairy sheep breeds of Greece. *Small Ruminant Research*, *107*(1), 16–21. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.04.004
19. LIU, Q., PAN, Z., WANG, X., HU, W., DI, R., YAO, Y., & CHU, M. (2014). Progress on major genes for high fecundity in ewes. *Frontiers of Agricultural Science and Engineering*, *1*(4), 282. https://doi.org/10.15302/J-FASE-2014042
20. López-Ramírez, R. B., Magaña-Sevilla, H. F., Zamora-Bustillos, R., Ramón-Ugalde, J. P., & González-Mendoza, D. (2014). ANALYSIS OF THE 3´ END REGIONS OF THE GDF9 AND BMPR1B GENES IN BLACKBELLY SHEEP

FROM YUCATÁN, MEXICO. *Ciencia E Investigación Agraria*, *41*(1), 23–24. https://doi.org/10.4067/S0718-16202014000100012

21. Lozano, H. (2015). *Study of sexual characteristics of male and female sheep under high altitude conditions in Colombia*. University of Namur. Retrieved from https://researchportal.unamur.be/en/studentTheses/study-of-sexual-characteristics-of-male-and-female-sheep-under-hi
22. McNatty, K. P., & Henderson, K. M. (1987). Gonadotrophins, fecundity genes and ovarian follicular function. *Journal of Steroid Biochemistry*, *27*(1–3), 365–73. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2826892
23. McNatty, K. P., Juengel, J. L., Reader, K. L., Lun, S., Myllymaa, S., Lawrence, S. B., … Laitinen, M. P. E. (2005). Bone morphogenetic protein 15 and growth differentiation factor 9 co-operate to regulate granulosa cell function in ruminants. *Reproduction (Cambridge, England)*, *129*(4), 481–7. https://doi.org/10.1530/rep.1.00517
24. McNatty, K. P., Moore, L. G., Hudson, N. L., Quirke, L. D., Lawrence, S. B., Reader, K., … Juengel, J. L. (2004). The oocyte and its role in regulating ovulation rate: a new paradigm in reproductive biology. *Reproduction (Cambridge, England)*, *128*(4), 379–86. https://doi.org/10.1530/rep.1.00280
25. Mcnatty, K. P., Smith, P., Moore, L. G., Reader, K., Lun, S., Hanrahan, J. P., … Juengel, J. L. (2005). Oocyte-expressed genes affecting ovulation rate. *Molecular and Cellular Endocrinology*, *234*, 57–66. https://doi.org/10.1016/j.mce.2004.08.013
26. Miller, S. A., Dykes, D. D., & Polesky, H. F. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*, *16*(3), 1215. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3344216
27. Monteagudo, L. V., Ponz, R., Tejedor, M. T., Laviña, A., & Sierra, I. (2009). A 17bp deletion in the Bone Morphogenetic Protein 15 (BMP15) gene is associated to increased prolificacy in the Rasa Aragonesa sheep breed. *Animal Reproduction Science*, *110*(1–2), 139–146. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.01.005
28. Montgomery, G., McNatty, K., & Davis, G. (1992). Physiology and molecular genetics of mutations that increase ovulation rate in sheep. *Endocrine Reviews*. Retrieved from http://press.endocrine.org/doi/abs/10.1210/edrv-13-2-309
29. Montgomery, G. W., Galloway, S. M., Davis, G. H., & McNatty, K. P. (2001). Genes controlling ovulation rate in sheep. *Reproduction*, *121*(6), 843–852. https://doi.org/10.1530/reprod/121.6.843
30. Moradband, F., Rahimi, G., & Gholizadeh, M. (2011). Association of Polymorphisms in Fecundity Genes of GDF9, BMP15 and BMP15-1B with Litter Size in Iranian Baluchi Sheep. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *24*(9), 1179–1183. https://doi.org/10.5713/ajas.2011.10453
31. Mulsant, P., Lecerf, F., Fabre, S., Schibler, L., Monget, P., Lanneluc, I., … Elsen, J. M. (2001). Mutation in bone morphogenetic protein receptor-IB is associated with increased ovulation rate in Booroola Mérino ewes. *Proceedings of the*

National Academy of Sciences of the United States of America, *98*(9), 5104–9. https://doi.org/10.1073/pnas.091577598

32. Muñoz, R., & Jurado, J. J. (2012). Búsqueda de indicios de un gen mayor para prolificidad en cuatro razas ovinas españolas. *ITEA Informacion Tecnica Economica Agraria*, *108*(4), 537–545.
33. Musthafa, M. M., & Marikar, F. M. M. T. (2014). An overview of major Genes Affecting Prolificacy in Sheep and Related Mechanisms. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, *4*(2), 239–246.
34. Notter, D. R. (2012). Genetic improvement of reproductive efficiency of sheep and goats. *Animal Reproduction Science*, *130*(3–4), 147–151. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.01.008
35. Palomera, C. L., & Alonso, R. A. (2014). Genes con efecto mayor sobre la fertilidad de ovejas. Revisión. *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias*, *5*(1), 107–130.
36. Petrovic, M., Caro-Petrovic, V., Ruzic-Muslic, D., Maksimovic, N., Ilic, Z., Milosevic, B., & Stojkovic, J. (2012). Some important factors affecting fertility in sheep. *Biotechnology in Animal Husbandry*, *28*(3), 517–528. https://doi.org/10.2298/BAH1203517P
37. Polley, S., De, S., Brahma, B., Mukherjee, A., P.V., V., Batabyal, S., … Goswami, S. L. (2010). Polymorphism of BMPR1B, BMP15 and GDF9 fecundity genes in prolific Garole sheep. *Tropical Animal Health and Production*, *42*(5), 985–993. https://doi.org/10.1007/s11250-009-9518-1
38. Roy, J., Polley, S., De, S., Mukherjee, A., Batabyal, S., Pan, S., … Goswami, S. L. (2011). Polymorphism of fecundity genes (FecB, FecX, and FecG) in the Indian Bonpala sheep. *Animal Biotechnology*, *22*(3), 151–62. https://doi.org/10.1080/10495398.2011.589239
39. Scaramuzzi, R. J., Baird, D. T., Campbell, B. K., Driancourt, M.-A., Dupont, J., Fortune, J. E., … Webb, R. (2011). Regulation of folliculogenesis and the determination of ovulation rate in ruminants. *Reproduction, Fertility and Development*, *23*(3), 444. https://doi.org/10.1071/RD09161
40. Shabir, M., Ganai, T. A. S., Misra, S. S., Shah, R., & Ahmad, T. (2013). Polymorphism study of growth differentiation factor 9B (GDF9B) gene and its association with reproductive traits in sheep. *Gene*, *515*(2), 432–438. https://doi.org/10.1016/j.gene.2012.12.018
41. Shackell, G. H., Hudson, N. L., Heath, D. A., Lun, S., Shaw, L., Condell, L., … McNatty, K. P. (1993). Plasma gonadotropin concentrations and ovarian characteristics in Inverdale ewes that are heterozygous for a major gene (FecX1) on the X chromosome that influences ovulation rate. *Biology of Reproduction*, *48*(5), 1150–6. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8386945
42. Souza, C. J. H., Campbell, B. K., Webb, R., & Baird, D. T. (1997). Secretion of inhibin A and follicular dynamics throughout the estrous cycle in the sheep with

and without the Booroola gene (Fec(B)). *Endocrinology*, *138*(12), 5333–5340. https://doi.org/10.1210/en.138.12.5333

43. Souza, C. J. H., MacDougall, C., Campbell, B. K., McNeilly, A. S., & Baird, D. T. (2001). The Booroola (FecB) phenotype is associated with a mutation in the bone morphogenetic receptor type 1 B (BMPR1B) gene. *Journal of Endocrinology*, *169*(2), 3–8. https://doi.org/10.1677/joe.0.169R001
44. Souza, C. J., MacDougall, C., MacDougall, C., Campbell, B. K., McNeilly, A. S., & Baird, D. T. (2001). The Booroola (FecB) phenotype is associated with a mutation in the bone morphogenetic receptor type 1 B (BMPR1B) gene. *The Journal of Endocrinology*, *169*(2), R1-6. https://doi.org/10.1677/JOE.0.169R001

4. Discusión

Dado el alto número de razas existentes de la especie ovina (Ovis aries), la prolificidad presenta varios reportes con valores contrastantes. Por consiguiente, se han reportado razas con valores de prolificidad mayores a los encontrados en el presente estudio (1.21 Romney, 1.23 Corriedale, 1.36 Criolla y 1.43 Hampshire), como es el caso de las razas Small Tailed Han de China (2.65) (Chu et al., 2006; Wang, Li, & Wei, 1990), Belle-lle de Francia (2.23) (LIU et al., 2014), Romanov (2.5) (Petrovic et al., 2012) y Finnish Landrance (2.3) (Banchero, Vázquez, Irarí, Ciappesoni, & Quintans, 2016). De igual modo, existen reportes de razas con valores de prolificidad similares a los encontrados en el presente estudio como las razas Pramenka (1.1) (Petrovic et al., 2012), Rasa Aragonesa (1.2) (Monteagudo, Ponz, Tejedor, Laviña, & Sierra, 2009; Sierra, 1992) y Dorset (1.41) (Casas, Freaking, & Leymaster, 2004; Chu et al., 2011; Freetly & Leymaster, 2004) donde se observa que los valores mas bajos encontrados se relacionan con producciones de carne, como lo es la producción del CAM.

La comparación del valor de prolificidad encontrado en este trabajo para la raza Hampshire (1.4307 ± 0.5273) fue inferior al reportado para la misma raza por Sidwell & Miller, (1971) (1.55). Los valores de prolificidad de este trabajo para la raza Corriedale (1.2368 ± 0.4580) son similares a los reportados para la misma raza por Banchero et al., (2016) (1.2) lo que contrasta con lo encontrado para la raza Romney Marsh (1.2161 ± 0.4135) que fue inferior al reportado por Bhuiyan & Curran, (1991) (1.56). Las diferencias observadas pueden ser explicadas por el manejo y condiciones ambientales características de cada estudio.

La raza Hampshire fue la que presentó el promedio más alto en relación con las demás razas analizadas (1.4307 ± 0.5273), seguida de la raza Criolla (1.3629 ± 0.5545). Lo anterior destacó a la raza Criolla, que se ubica por encima de las dos anteriores, lo que permite demostrar una mejor adaptabilidad reproductiva que las razas Romney Marsh y

Corriedale. De igual modo, se destacan los valores de prolificidad encontrados en la raza Hampshire y Criolla, lo que denota su buena adaptabilidad reproductiva, sin embargo, es importante recalcar que estas dos razas fueron las que mayor número de partos aportaron al análisis.

Se observó que la tendencia al aumento de la prolificidad, se da a medida que la hembra tiene más partos (máximo 4 partos en el presente estudio), Lo anterior, concuerda con Buratovich, (2010) quien indicó que la cantidad de corderos nacidos vivos por oveja parida suele aumentar con la edad hasta los 5-6 años, para posteriormente descender al final de su vida útil.

Los productores por lo general, realizan apareamientos a edades tempranas de las hembras con el fin de lograr una mayor eficiencia reproductiva a lo largo de la vida del animal (Buratovich, 2010), permitiendo que se utilicen animales que no han llegado a la madurez fisiológica y se hallen aún en crecimiento, esto genera una competencia por los nutrientes entre la gestación y los procesos de desarrollo fisiológico, lo que va en detrimento de los parámetros reproductivos, tales como la prolificidad. Es por esto, que la tendencia observada en el estudio fue la de aumento con el mayor valor al cuarto parto (1.52). Lo anterior está acorde con Dickson et al (2004), quienes demostraron que la edad es un factor influyente sobre la prolificidad. Estos autores evaluaron hembras de 2 a 9 años de edad y encontraron que el mejor porcentaje de corderos destetados procedían de hembras de edades intermedias, específicamente, de 4 años de edad (Dickson, Torres, D'Aubeterre, & García, 2004; George M. Sidwell, Everson, & Terrill, 1962).

La heredabilidad encontrada para la característica Prolificidad en las ovejas del CAM (0.244 ± 0.04) está acorde con lo indicado por Quijano y Echeverry (2015), en relación con los valores bajos de heredabilidad y repetibilidad (5 – 20 %) que presentan los caracteres reproductivos (intervalo entre partos, días abiertos, prolificidad, entre otros) en animales de producción. Lo anterior contrasta con la heredabilidad media (21-40%) que se puede encontrar para caracteres productivos (ganancia de peso, peso, producción de lana, entre otras). Es importante aclarar en este aspecto que la heredabilidad obtenida fue calculada en el sentido amplio, debido a que los animales de donde se obtuvieron los datos son

fundadores de la producción, por lo que no se encuentran emparentados. Es decir que podemos esperar que el valor de la heredabilidad sea menor, cuando los datos del CAM permitan estimarla en el sentido estricto, dado que no se tiene la información genealógica de las hembras analizadas en el presente estudio, porque corresponden a una población fundadora.

Se debe tener en cuenta que pueden haber diferencias debido a los diferentes métodos de cálculo de la heredabilidad y repetibilidad por el tamaño de la muestra, la varianza ambiental y la constitución genética de las poblaciones, entre otros, siendo factores que hacen que las estimaciones para una misma característica puedan ser diferentes (Quijano & Echeverri, 2015).

En cuanto a la repetibilidad en Colombia son pocos los reportes de estimaciones para características de importancia económica en ovinos (Quijano & Echeverri, 2015). Algunos ejemplos de características similares como número de corderos nacidos, tamaño de camada en cerdos y tamaño de camada en conejos presentan repetibilidades de 0.15, 0.27 y 0.26 respectivamente (Adeoye, Adeogun, & Akinokun, 2003; Pereira, 1999; Vásquez, Martínez, & Manrique, 2007). El valor de repetibilidad encontrado para la característica Prolificidad en las ovejas del CAM (0.270 ± 0.05) fue más alto que el reportado por Pereira, (1999) para la característica número de corderos nacidos (0.15). Explicado quizá por un mantenimiento homogéneo de las características de la producción en el CAM.

Se encontraron SNPs polimórficos dentro del gen BMPR1B (rs429849190, rs402422707, rs418841713, rs408447622, rs413129951, rs412038619, rs427046713 y rs426338048). Los SNPs rs408447622, rs413129951 y rs412038619 a pesar de ser polimórficos tuvieron una frecuencia inferior al 10% por lo que no fueron incluidos dentro del estudio. Los SNPs A, B, C, D y E fueron analizados para evaluar su asociación con la prolificidad de las hembras del CAM, donde el único que presento asociación fue el SNP E, mostrando que un cambio en la posición E de un alelo G (Guanina) aumenta en 0.063 la probabilidad de tener un parto doble.

Se destaca que el SNP C que se ha catalogado como Booroola en la literatura (Davis et al., 2006; Debnath & Singh, 2016; LIU et al., 2014; Mulsant et al., 2001; Polley et al., 2010; Roy et al., 2011; Souza et al., 2001; Souza, MacDougall, Campbell, McNeilly, & Baird,

2001), se encontró polimórfico en la población estudiada. Sin embargo, solo se encontraron animales Heterocigotos y no fue significativo para el modelo utilizado.
En el gen BMP15 el SNP rs402413016 no se encontró polimórfico para la población evaluada. Sin embargo, es importante tener en cuenta que en este gen se han reportado muchos polimorfimos tipo SNPs (Chu et al., 2007; Davis et al., 1992; Fabre et al., 2006; Galloway et al., 2000, 2002; McNatty et al., 2004; McNatty et al., 2005; Monteagudo, Ponz, Tejedor, Laviña, & Sierra, 2009; Montgomery, Galloway, Davis, & McNatty, 2001; Muñoz & Jurado, 2012; Palomera & Alonso, 2014; Scaramuzzi et al., 2011; Shackell et al., 1993), los cuales son interesantes para evaluar en poblaciones ovinas colombianas para conocer su frecuencia, asociación y su posible utilidad para planes de mejoramiento animal.

En el gen GDF9 se encontraron 7 SNPs polimórficos (rs404376560, rs399579080, rs193637058, rs160076408, rs160076413, rs422644056 y rs410123449). Los SNPs rs421019907 y rs399579080, aunque fueron polimórficos tuvieron una frecuencia inferior al 10% por lo que no fueron incluidos dentro del estudio. Los SNPs F, G, H, I y J fueron analizados para evaluar su asociación con la prolificidad de las hembras del CAM, evidenciándose asociación para los SNPs H e I. El SNP H tuvo un comportamiento interesante al presentar una mejor respuesta para los individuos heterocigotos (TC) con respecto al homocigoto (TT), los cuales tienen 0.358 veces más probabilidad de presentar un parto doble. Lo anterior, concuerda con varios trabajos en los que se ha encontrado asociación de SNPs con la característica prolificidad en individuos heterocigotos (Hanrahan et al., 2004; Liandris et al., 2012; McNatty et al., 2005; Moradband, Rahimi, & Gholizadeh, 2011; Muñoz & Jurado, 2012). El SNP H mostró un comportamiento similar al SNP FecGE encontrado por Silva et al., (2011) en la raza Santa Inés, ya que los animales homocigotos mutados CC tienen su función reproductiva normal.

Para el caso del SNP I se evidenció que los individuos heterocigotos (AG) tuvieron 5.2 veces más probabilidades de tener un parto doble que las hembras homocigotas (AA). Este caso está de acuerdo con varios autores que han reportado SNPs para este gen en donde se hallaron ventajas en prolificidad para los animales heterocigotos (Hanrahan et al., 2004; Liandris et al., 2012; McNatty et al., 2005; Moradband et al., 2011; Muñoz & Jurado, 2012; Palomera & Alonso, 2014). Es importante resaltar en este último caso que

los genotipos encontrados fueron AG y AA evidenciando la ausencia del genotipo homocigoto mutado GG. Esto puede ser explicado porque los animales homocigotos para SNPs dentro de este gen pueden presentar un pobre desarrollo ovárico y por consiguiente no poseen información de vida reproductiva, como se evidencia en la literatura (Ahlawat, Sharma, Roy, Tantia, & Prakash, 2015; Chu et al., 2011; Debnath & Singh, 2016; LIU et al., 2014; López-Ramírez, Magaña-Sevilla, Zamora-Bustillos, Ramón-Ugalde, & González-Mendoza, 2014; Muñoz & Jurado, 2012; Palomera & Alonso, 2014; Polley et al., 2010; Shabir, Ganai, Misra, Shah, & Ahmad, 2013).

5. Conclusiones y recomendaciones

Dado Los valores de prolificidad encontrados en las razas Hampshire y Criolla, destacan su buena adaptabilidad reproductiva.

Se destaca que la raza Hampshire presentó el mayor valor de prolificidad bajo las condiciones del CAM, destacando que en segundo lugar está la raza Criolla por lo que se recomienda la utilización de estas dos razas para mejorar la prolificidad en el rebaño.
La tendencia observada es que a medida que la hembra tiene más partos, su prolificidad va en aumento.

Los valores de heredabilidad y repetibilidad de la característica Prolificidad encontrada en las ovejas del CAM (0.244 ± 0.04 y 0.270 ± 0.05 respectivamente) son medios. Sin embargo, cuando los datos recolectados en el CAM permitan la estimación de estos parámetros en el sentido estricto, esperaremos encontrar valores menores.

El número de parto no tuvo efecto sobre la característica de prolificidad de las hembras del CAM cuando fue evaluado en conjunto con la información de los SNPs polimórficos.
La raza que más se diferenció al evaluar el efecto de la raza, fue el Hampshire que tiene 11 veces más probabilidad de tener un parto doble que las hembras de la raza Criolla en este estudio.

Los SNPs rs408447622, rs413129951 y rs412038619 ubicados en el gen BMPR1B a pesar de ser polimórficos tuvieron una frecuencia inferior al 10%, por lo que no pudieron ser

incluidos dentro del estudio, por lo que se considera importante validar esta información en poblaciones más grandes ya que en el actual estudio.

Los SNPs A, B, C, D, F y G no presentaron asociación con la característica de prolificidad de las hembras del CAM evaluadas en el presente estudio.

Se pudieron identificar animales portadores del SNP C, que corresponde a la mutación Booroola, en la población de hembras del CAM, por lo que estos animales se podrían utilizar en cruzamientos planeados para incrementar la frecuencia del gen en el rebaño. Podría ser interesante evaluar la presencia de este polimorfismo en un mayor número de individuos de poblaciones colombianas, con el fin de poder identificar la presencia de animales homocigotos para la mutación y validar los resultados de asociación con la característica prolificidad.

Con respecto al gen BMP15 se evidenció que el SNP rs402413016 fue monomórfico en la población de hembras del CAM analizadas. Sin embargo, es importante tener en cuenta este gen mayor en futuras investigaciones debido a la gran cantidad de polimorfismos reportados que pesentan asociación a la característica prolificidad.

Los SNPs rs421019907 y rs399579080 ubicados en el gen GDF9 a pesar de ser polimórficos tuvieron una frecuencia inferior al 10%, por lo que no pudieron ser incluidos dentro del estudio. No obstante, es importante validar esta información en poblaciones más grandes.

Los SNPs E, H e I ubicados en los genes BMPR1B (E) Y GDF9 (H e I) tienen efecto sobre la característica prolificidad en las hembras del CAM evaluadas.

El SNP I fue el que mostró el mayor efecto sobre la característica de prolificidad donde los animales heterocigotos AG tuvieron 5.2 veces más probabilidad de presentar un parto doble con respecto a los animales heterocigotos AA. Por lo que, es un polimorfismo candidato para validarlo en investigaciones futuras con poblaciones mas grandes y de ser posible en regiones diferentes del país para determinar su potencial uso dentro de la producción ovina en Colombia.

Los factores como la ausencia de registros en las producciones, el desconocimiento de la importancia de estimar parámetros como la heredabilidad y en general la ausencia de programas de mejoramiento genético en Colombia, hacen que se tenga información muy incipiente en la estimación de parámetros genéticos de la producción ovina.

Los resultados de este trabajo, si bien pueden considerarse preliminares, aportan información de base para la gestión genética de esta población. Se debe tener en cuenta la recomendación de seguir recolectando los datos productivos y genealógicos por periodos largos que permitan una mejor estimación de parámetros genéticos en miras de estructurar un programa de mejora genética. Además, es necesario llevar el registro del tipo de parto de las madres (sencillo, doble o triple), ya que se ha rencontrado que hembras nacidas de partos múltiples tienen una mayor probabilidad de presentar partos múltiples en su vida reproductiva, lo que sería importante verificar y tener en cuenta dentro de las poblaciones ovinas nacionales.

Finalmente, la reproducción es un proceso fisiológico complejo que se encuentra modulado por factores ambientales, factores neuroendocrinos internos y factores genéticos que constantemente interactúan sobre el animal para que éste muestre un determinado fenotipo. Es un proceso importante desde el punto de vista productivo, siendo la base de la rentabilidad de los sistemas ovinos, por lo que, siempre será importante ahondar sobre todos los aspectos involucrados en ella, para determinar cuales la afectan bajo las condiciones agroclimáticas de nuestro país. Lo anterior, con el fin de optimizar el uso de la tierra, mejorar la productividad de los sistemas ovinos y con ello la calidad de vida de quienes los administran.

Lo anterior, destaca la importancia de continuar desarrollando investigaciones teniendo en cuenta las diferentes razas, características reproductivas y agroclimáticas presentes en nuestro país y validando la acción de polimorfismos reportados con efecto sobre características productivas. Lo anterior permitirá darles validez científica para que puedan ser usados en programas de mejora genética y/o introgresión de alelos asociados positivamente con las características productivas de las poblaciones animales locales.)

A. Anexo A: Amplicones y genotipificación de todos los marcadores utilizados

Marcador BMP15-1

La región amplificada es una región contenedora del SNP reportado con accesión rs402413016. El cambio corresponde a C/T y es una mutación de tipo *missense*. La base polimórfica y los primers se encuentran resaltados en el amplicón.

ACTGGGCAATCATACCCTCATACTCCTTGTACAAGATACTCCCATTTGCCTCAATCA
GAAGGATGCTAATGGGAACATACTTATAAGGGACACAGGAAGGCTGAGGGACATTC
TGATCCACCAGCTCA**C**TGACAAGGTTCTGGATGA**TGGCATGATTGGGAGAATTGAG**
A

Tras la genotipificación de la población mediante HRM-PCR se encontraron un total de 6 grupos establecidos por el algoritmo del LightCycler 96, indicador de que esta región puede ser de alta variabilidad en la población objetivo (imagen A-1).

Imagen A-1 Difference plot corrido 1 de BMP15-1.

Marcador BMPR15-2

La región amplificada es una región contenedora del SNP reportado con accesión rs429849190 y rs402422707. El cambio corresponde a G/A y A/G respectivamente y ambos son polimorfismos tipo sinónimo. Los polimorfismos reportados se destacan en negrita.

GACCCTCAAGATCTCCATTCTGGCTTGGCTCCTATCCCCCACTGGTC**G**TGTATGGC
CTTTCCTTTCAAGTTGTACATCAGC**A**CACATTGGTTCCTCGTGTTGCATTAAAGAAGC
CCCAACTTCATCTT**CATAAAACAGGGCAATGCCTTCA**

La genotipificación de la población mediante permitió agrupar la población objetivo en un total de 7 grupos (imagenA-2).

ImagenA-2 Difference plot corrido 2 de BMPR15-2

Marcador BMPR15-3

Región amplificada: es una región contenedora de los SNPs reportados con números de accesión rs418841713, rs408447622 y rs427897187. Los SPNs corresponden a los cambios T/C, C/T y C/T respectivamente. Únicamente el polimorfismo rs418841713 de tipo *missense*, las demás corresponden a polimorfismos sinónimos.

AGGAAACCCTGAACATCGCTAATACAGACTTATACTCACCCAAGATGTTTTCATGCC
TCATCAACACCGTC**T**GATATATTTCTGTCTCTCGGAACCAGCTGGCCTCCTCTGTAGT
GAAGAACACTTTCACAGCTACCTTTTCGCCACGCCACTTTCCCATCCAAACTTCCCCA
TAGCGACCTTTTCCAATCTGTTTCACCATCTGAATTTGCTTTGCTAT**C**GT**C**CTCTGGA
C**CTGTTAAATCCCCCAACACACTG**

Durante la genotipificación de la población con HRM-PCR se encontraron un total de 6 grupos, indicador de que esta región genómica puede ser de alta variabilidad en la población objetivo (imagen A-3).

Imagen A-3 Difference plot corrido 1 de BMPR15-3.

Marcador BMPR15-4

La región amplificada es una región contenedora del SNP reportado con accesión rs404709850, correspondiente a un cambio C/A, el polimorfismo rs418124937 correspondiente a un cambio G/A y rs427046713 a un cambio G/A.

GCTTCCCAATTCTTTGCTACACACTAGAGAATTCTAAG**C**AGCATAAGAAA**G**CCACAG
TCAGGAAGTAAATGAATAAGGTTGAGAGGGATGTGTACAATT**G**TACCCTTTATTATGC
TCCTGTTGCTAAGGAA**TACTGGCCCTGTCAATGATTTGA**

Con la genotipificación de la población un total de 12 grupos, indicador de que esta región puede ser de alta variabilidad en la población objetivo (imagen A-4).

Imagen A-4 Difference plot corrido 1 de BMPR15-4.

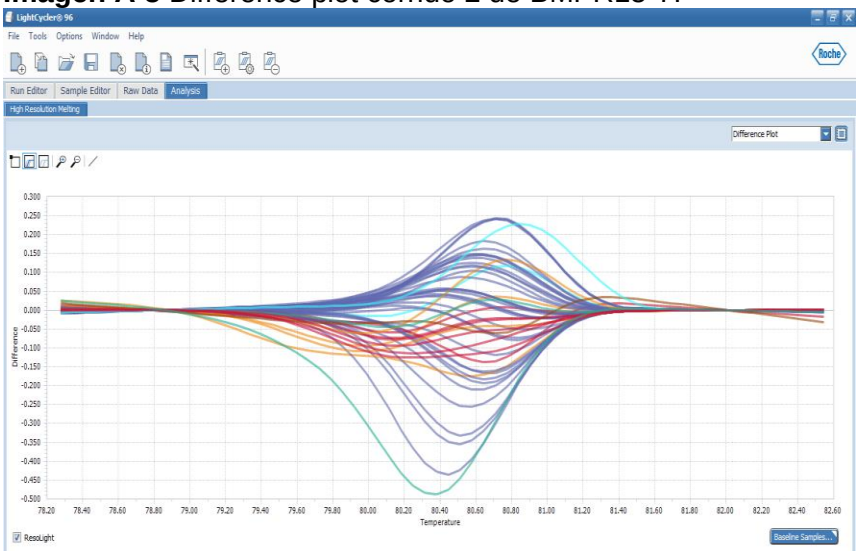
Marcador BMPR15-7

La región amplificada es una región contenedora de los SNPs reportados con números de accesión rs413129951 (T/C), rs426338048 (C/G), rs402789684 (C/T), rs412038619 (G/A), rs424181501 (C/T) y rs404698207 (A/G). Todos los polimorfismos reportados existentes en esta región corresponden a cambios tipo *missense*.

AGATTTCAACCAAAGCTAAGGTGCACTCACCAACTA**T**AAGATGATCA**C**AG**CG**CAGA
GTGATTTGGGTTTTGTTTCTA**C**AAATTTCCTTGGCAGTATCTTTCTCATCTCTATCCAC
TCTC**A**GCCCAGAGATTTGTGTATAGTAATCTCTTCCAACAGTGTTGCCCCTTGGGAA
ATCAAATCGTTAAATAAATGTC**TAGGCTGAAGACCAGTTCAAGAT**

En la población genotipada se encontraron un total de 8 grupos (imagen A-5).

Imagen A-5 Difference plot corrido 2 de BMPR15-7.



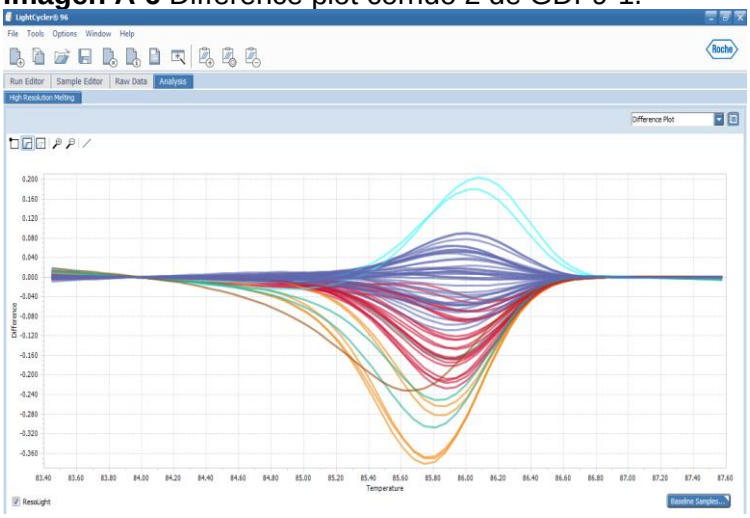
Marcador GDF9-1

La región amplificada es una región contenedora de los SNPs reportados con números de accesión rs398733804 (C/A, sin sentido), rs413900102 (G/A), rs425223128 (T/C, tipo *missense)* y rs403536877 (C/T, tipo *missense*).

CACTCAAAGGGCTATACTTGGCAGGTACACAGGATGGTCTTGGCACTGAGGAGTCA
AGTTTCT**C**ATGGATGATGTTCTGCACCATGGTGTGAACCGGAGA**G**CCATACCGATGT
CCGACCGCCCTGGGACAGTCCCCTTTACAGTATCGAGGGTTGTAT**T**TGTGTGGGGC
CA**C**AATCCAGTTGTCCCACTTCAGCTGACTAAAGCTA**AGTCTAAAGTCATGGAGCTC
ACA**

Un total de 6 grupos genotípicos fueron encontrados en la población objetivo mediante el análisis HRM-PCR (imagen A-6).

Imagen A-6 Difference plot corrido 2 de GDF9-1.



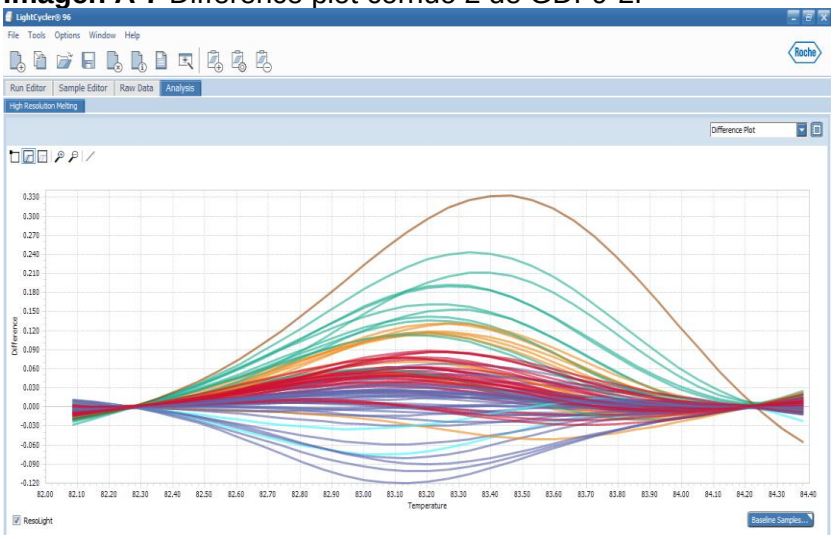
Marcador GDF9-2

La región amplificada es una región contenedora de los SNPs reportados con números de accesión rs426065119 (G/A, de tipo *missense*), rs421019907 (C/T, tipo *missense*), rs399579080 (T/C) y rs404376560 (G/T, de tipo *missense*).

AAGCTAAGTCTAAAGTCATGGAGCTCACATTCATTCTGGG**G**AAAAAGAAACTGTTTG
AAGTATTCACTCAGATTGACTGAAGCTGGAA**C**CAGAGGCTTCTTCAA**T**TCA**G**AGCTG
GCACTCTCCTGGTCTCTGCG**GTGACGGGACGATCTTACACC**

Tras la genotipificación de la población mediante HRM-PCR se encontraron un total de 6 grupos, indicador de que esta región puede ser de alta variabilidad en la población objetivo (imagen A-7).

Imagen A-7 Difference plot corrido 2 de GDF9-2.



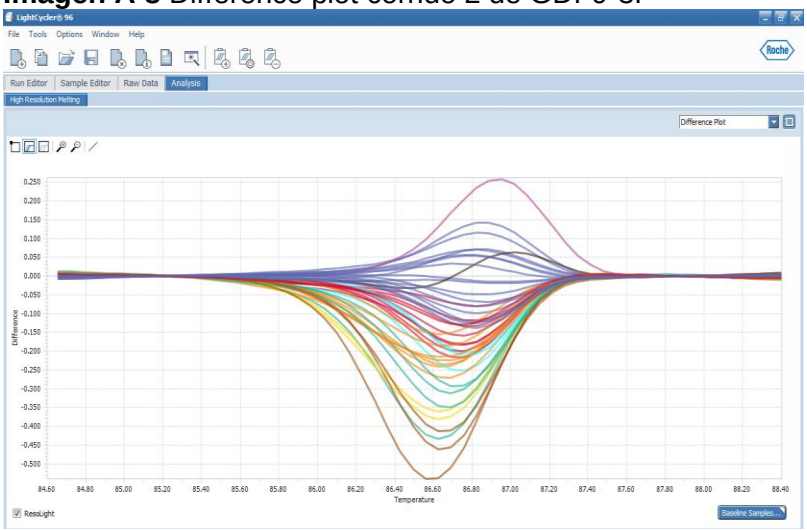
Marcador GDF9-3

La región amplificada es una región contenedora de 5 SNPs reportados con los números de accesión rs160076402, rs415699275, rs426882553, rs193637058 y rs160076408. Estos polimorfismos corresponden a cambios T/C, C/G (tipo *missense*), A/G, C/T (tipo *missense*) y T/C (tipo *missense*) respectivamente.

GATCTTACACCCTCAGCAGCTTCTTCTCCCACGGGGTAGGCAGA**T**AGCCCTCTCTT
CTGGTCAGGAC**C**CTGTGAAGGCTTCCTTTTAGGGTGGAGGGAATGCCACCTGTGAA
AAGCCTGAGCACTTGTGTCGTTCAGATAC**A**AAAGCAGTGAGGGCGCTACGAGAAGA
GTCATGTTAAACAGGCTGTC**C**CGCGCTGAAGGATGCTGCAGCTGGTCTT**T**CGCACAT
GTAAAATTTACAGACATGTGAA**TATTCCTCTTGTGGGAGGCCA**

Tras la genotipificación de la población mediante HRM-PCR se encontraron un total de 12 grupos, indicador de que esta región puede ser de alta variabilidad en la población objetivo (imagen A-8).

Imagen A-8 Difference plot corrido 2 de GDF9-3.



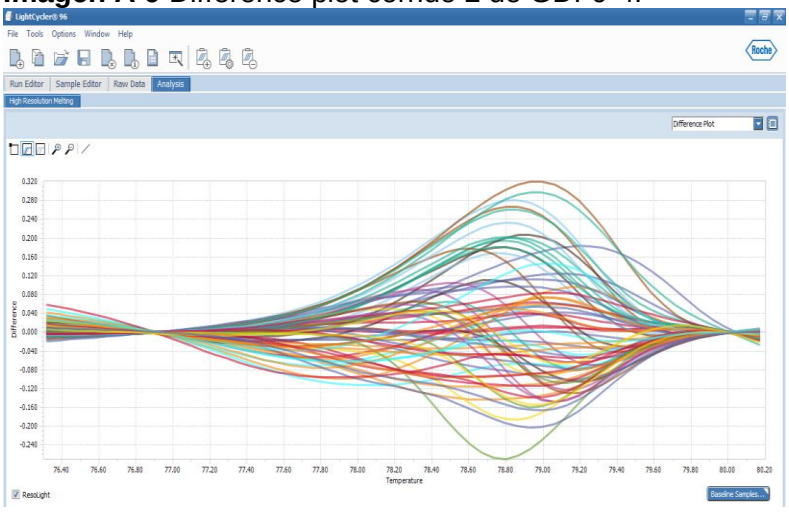
Marcador GDF9-4

La región amplificada: es una región contenedora de los SNPs reportados con números de accesión rs160076413 (T/C) y rs422644056 (A/G).

ACTCTGGCTCTTTTATCACCAGGTTGCATATACATTTAACAGGAAAGGGAAAAGAAAT
GGAGTTGTTGAAAGTATA**T**AGCAA**A**ACTGACTTGAATAAATGTTCCACAACAGTAACA
CGATCCAGGTTAAACAGCAGATC**CACTGATGGAAAGGTTCCTGAGA**

Un total de 12 grupos genotípicos fueron establecidos por el algoritmo del LightCycler 96 en la población objetivo mediante el análisis HRM-PCR (imagen A-9).

Imagen A-9 Difference plot corrido 2 de GDF9-4.



Marcador GDF9-5

La región amplificada es una región contenedora del SNP reportado con accesión rs410123449. El cambio corresponde a C/T y es una mutación de tipo *missense*.

GAAGAGCCGAACAGTGTTGTAGAGGTGGCGTCTGTTGGATTTAGGGGTCCCCTCCT
TGGTAGCGTATGCCTTATAGAGCCTCTTCATGTAG**C**GCAAAGCTCTGTCATCTGGCT
GCAGCCTGGGGGGTTCCCCGTGCCCATCATACAGAACCTCTAAGAGAGGGGAAAG
GAGACCAGGTCTG**TGTCTCCCACCTAAATGGTTCAG**

En la población genotipada se encontraron un total de 6 grupos (imagen A-10).

Imagen A-10 Difference plot corrido 2 de GDF9-5.