

R. Muñoz y J.J. Jurado

**BÚSQUEDA DE INDICIOS DE UN GEN MAYOR PARA PROLIFICIDAD
EN CUATRO RAZAS OVINAS ESPAÑOLAS**

Separata ITEA

INFORMACIÓN TÉCNICA ECONÓMICA AGRARIA, VOL. **108** N.º 4 (537-545), 2012

Búsqueda de indicios de un gen mayor para prolificidad en cuatro razas ovinas españolas

R. Muñoz¹ y J.J. Jurado

Dpto de Mejora Genética Animal. INIA, Ctra de la Coruña km 7,500. 28040 Madrid

Resumen

En la especie ovina se han identificado diez alelos relacionados con una mayor tasa de ovulación y prolificidad. El uso de éstas u otras posibles mutaciones, puede ser una importante herramienta para incrementar el progreso genético del carácter. En este trabajo se muestran indicios de la posible existencia de un gen mayor afectando la prolificidad en ovinos. Se analizaron las características fenotípicas de cuatro razas ovinas españolas mediante la aplicación de un protocolo de cinco pasos: valoración genética de reproductores, análisis de la distribución de la prolificidad, análisis de la prolificidad dentro de grupos familiares, estimación de la repetibilidad en animales sugerentes y un análisis estadístico. Se encontraron machos posibles portadores de un gen mayor en la raza Manchega. Los resultados corresponden a una primera aproximación hacia la detección e identificación de un gen mayor que pudiera estar afectando a la prolificidad de esta raza.

Palabras clave: Ovinos, Genética, Tamaño de camada, Raza Manchega.

Abstract

Search of evidence of a major gene for prolificacy in four Spanish sheep breeds

In sheep have identified ten alleles are associated with increased ovulation rate and prolificacy. The use of these or other possible mutations may be an important tool to increase the genetic progress of the prolificacy. In this paper we show evidence of the possible existence of a major gene affecting prolificacy in sheep. We analyzed the phenotypic characteristics of four Spanish sheep breeds by implementing a five-step protocol: genetics evaluation of animals, analysis of the distribution of prolificacy, analysis of prolificacy within family groups, estimation of repeatability in animals suggestive and statistical analysis. Males were potential carriers of a major gene in Manchega breed. These results are a first approximation to the detection and identification of a major gene that could be affecting the prolificacy of this breed.

Key words: Sheep, Genetic, Litter size, Manchega breed.

Introducción

Desde la detección del primer gen mayor que afecta la prolificidad en el ganado ovino, en la década de los 80, se han identificado

diez alelos distintos en diversas razas alrededor del mundo (Davis, 2005, Jurado *et al.*, 2012) y existen otros no identificados todavía (Bodin, 2006). En el año 2007, Jurado y colaboradores informaron de la detección

1. Autor para correspondencia: rubenagro@gmail.com

de un posible nuevo gen responsable del incremento de la prolificidad de ovejas raza Rasa-Aragonesa. El nuevo "gen mayor" fue identificado como un alelo mas del gen *BMP15* (Martínez-Royo *et al.*, 2008), y fue denominado *FecX^R* (y ROA como nombre comercial). Dicho alelo incrementa la prolificidad de las ovejas en $0,32 \pm 0,048$ corderos por oveja y parto (Jurado *et al.*, 2008), lo que se traduce en mejores resultados económicos (Pardos *et al.*, 2010). El gen está localizado en el cromosoma X por lo que los machos hemigóticos para el alelo transmiten siempre a sus hijas el alelo favorable. Las hembras homocigóticas para el alelo *FecX^R* son estériles, mientras que las heterocigotas son más prolíficas que las homocigóticas para el alelo salvaje, que tienen una prolificidad acorde con la media de la raza (Jurado *et al.*, 2008). Es una característica muy llamativa que las mutaciones del gen *BMP15*, así como las del *GDF9*, provocan esterilidad en hembras homocigóticas (Jurado *et al.*, 2012) aspecto que debe tenerse en cuenta en el momento de detectar animales portadores y posteriormente identificar el gen responsable.

Debido a que la prolificidad es un carácter poco heredable, el progreso genético conseguido por el método de selección tradicional es lento, por esta razón el uso de genes mayores puede ser una importante herramienta para incrementar el progreso genético de este carácter (Smith, 1985). La presencia de estos genes en varias razas y en particular el hallazgo de uno de ellos en una raza ovina Española, ha motivado nuestro interés por buscar indicios o señales de la presencia de un gen mayor en distintas razas ovinas españolas. De esta forma, el objetivo del presente estudio fue analizar la prolificidad de cuatro razas ovinas españolas con el fin de identificar animales que pudieran ser portadores de un gen mayor para prolificidad.

Material y métodos

El estudio se realizó en cuatro razas ovinas presentes en España. Éstas fueron Rasa-aragonesa, Navarra, Manchega y Assaf. Se trabajó con los datos de producción y registros genealógicos de los programas de mejora de cada una de las razas los cuales fueron proporcionados por la Cooperativa de Carnes Oviaragón, Asociación Nacional de Criadores de Raza Navarra (ARANA), Asociación nacional de Criadores de Ganado Ovino Selecto de Raza Manchega (AGRAMA) y la Asociación Nacional de Criadores de Ganado Ovino de Raza Assaf (ASSAF.E).

Se estableció una metodología que consideraba cinco pasos la cual se aplicó por separado en cada una de las razas estudiadas. Cada paso consistió en un análisis particular de los datos que buscaba obtener señales o indicios de que algún macho fuese portador de un gen mayor a través del análisis de la prolificidad de las hijas. Tras la aplicación de este protocolo, los machos que presentaran una mayor cantidad de indicios se consideraron MACHOS CANDIDATOS. En el caso particular de la raza Rasa-aragonesa, se analizaron animales que no fueran portadores del alelo *FecX^R*, con el objetivo de identificar posibles machos portadores de otro alelo asociado a una prolificidad diferente a *FecX^R*. Los pasos de la metodología se detallan a continuación en el orden en que fueron aplicados.

1º Paso: Valoración genética para prolificidad. Se realizó una valoración genética para prolificidad mediante metodología BLUP con objeto de centrar nuestra búsqueda en los machos genéticamente superiores para este carácter. Se utilizó un modelo animal con medidas repetidas y se establecieron grupos genéticos para los individuos con padres desconocidos. El modelo describe cada observación fenotípica y como se muestra a continuación.

$$y = Xb + ZMg + Zu + Qp + e$$

Donde **y** es la prolificidad de cada oveja en un parto determinado, **b** es un vector que contiene los efectos fijos considerados y que se muestran en la tabla 1, **g** es el vector que contiene los grupos genéticos establecidos, **u** es el vector del efecto genético aditivo de cada animal y **p** un vector que contiene el efecto ambiental permanente. **X**, **Z**, y **Q** son las matrices de incidencia de **b**, **u** y **p** respectivamente. **Mg** es la matriz de incidencia de los grupos genéticos y **e** es el vector de residuos aleatorios. Para realizar las valoraciones genéticas se utilizó el programa BLUP-AM de Jurado *et al.*, (1991) y para llevar a cabo

Tabla 1. Efectos fijos y sus niveles en cada una de las razas
Table 1. Fixed effects and levels in each of the breeds

Efecto fijo	¹ Aragonesa	Navarra	Manchega	Assaf
Rebaño-año-estación	9.616	4.515	5.219	5.275
Lactación-edad	–	–	113	–
Modo de cubrición	6 *	–	2 **	–
Edad del animal	–	3	–	–
Tratamiento hormonal	–	2**	–	–
Intervalo entre partos	4	–	3	4
Número de lactación	–	–	–	6
Número de partos	10	–	–	–
Genotipo para el alelo <i>FecX^R</i>	3	–	–	–

¹ Aragonesa: Rasa-aragonesa
* Sincronización sin inseminación artificial (IA), sincronización con IA, monta natural, retorno tras sincronización sin IA, retorno tras sincronización con IA y desconocido.
** Uso de hormonas y sin uso de hormonas.

los análisis de estima de las componentes de varianza se utilizó el paquete estadístico VCE-6 de Groeneveld *et al.*, (2008).

Una vez realizada la valoración, se ordenaron los machos en función de su valor genético. Luego se construyó un catálogo con los machos mejor valorados agregando información relativa al tipo de parto de sus hijas. Con esta información se eligieron para continuar con el siguiente paso aquellos machos con valor genético elevado, es decir, que estuviera dentro del 30% de los machos mejor valorados, y cuyo porcentaje de partos dobles de sus hijas fuera superior al de partos simples, así como también, aquellos que presentaran un porcentaje llamativo de partos triples.

2º Paso: Análisis de la distribución de frecuencias de la prolificidad de las hijas. Para cada uno de los machos elegidos en el paso precedente, se buscaron todas sus hijas que tuvieran tres o más partos registrados, se calculó la prolificidad media de cada una de ellas y se construyó una gráfica de distribución de frecuencias de dicha prolificidad. Igualmente, para todas las ovejas de la raza que se estuviera analizando, se construyó el

mismo tipo de gráfica. De esta forma si la distribución de la prolificidad de las hijas de un macho presentaba un patrón claramente distinto a la distribución de la población, este macho se consideraba pre-candidato y se analizaba en todos los restantes pasos del protocolo establecido.

3º Paso: Análisis de parientes. Este paso consistió en observar la prolificidad de los parientes más cercanos de los machos pre-candidatos. Se buscaron los padres, abuelos, y los respectivos descendientes de estos y se construyó un diagrama familiar en el que se observaba y comparaba de forma visual la prolificidad media y valor genético de estos parientes. En el caso de los parientes machos, la prolificidad aludida correspondía a la prolificidad media de sus hijas. Se comparaba la prolificidad y valor genético del macho pre-candidato con la de sus padres, sus abuelos, medios hermanos, tíos y la de sus hijos(as) y se observaba si existían diferencias importantes en estos parámetros que hicieran pensar que un gen mayor estuviera segregando. Este análisis simple de los parientes de un macho se basa en el supuesto de que los genes mayores causan grandes diferencias entre animales con diferente genotipo, y que estas diferencias pueden ser reconocidas mediante el análisis de la estructura de parentesco utilizando la información fenotípica (Montaldo y Kinghorn, 2000).

4º Paso: Estimación de la repetibilidad de cada macho. Para cada pre-candidato se estimó la repetibilidad del tamaño de camada de los partos de sus hijas. Para ello se realizó un análisis de varianza considerando las hijas de un macho como efecto aleatorio. Se obtuvo las componentes de varianza entre y dentro de hijas y la repetibilidad se estimó como el cociente de la varianza entre hijas y la varianza total. Varios autores coinciden en que una alta repetibilidad del tamaño de camada sugiere un posible efecto de un gen mayor (Malher y Le Chère, 1998; Bodin *et al.*, 2002; Davis, 2005). El modelo utilizado con-

sidero el tamaño de camada observado en cada parto, sin corregir por los efectos ambientales. Este se detalla a continuación:

$$y_{ij} = \mu + h_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

y_{ij} es el tamaño de camada del j -ésimo parto de la i -ésima hija

μ es la media general del carácter

h_i es la contribución aleatoria de la i -ésima hija

ε_{ij} es el efecto residual

5º Paso: Análisis estadístico. Se realizó una comparación estadística entre los machos precandidatos y el resto de los machos de la población. Para ello se realizó un análisis de varianza factorial y un test de Tukey como análisis a posteriori. Se fijó un nivel de significación del 1%. La variable analizada fue el tamaño de camada de cada una de las hijas de los machos. A continuación se detalla el modelo empleado:

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

Donde:

Y_{ijk} es el tamaño de camada de la hija del i -ésimo macho en el j -ésimo rebaño

μ es la media general del carácter

M_i es el efecto i -ésimo macho

H_j es el efecto del j -ésimo rebaño

ε_{ijk} es el efecto residual

Resultados y discusión

Tras la aplicación de la metodología establecida a cada una de las razas se encontraron cinco machos candidatos, todos ellos en la raza Manchega. En la raza Rasa-aragonesa no se encontraron machos con características sugerentes de la presencia de un gen mayor

en animales que no fueran portadores del alelo *FecX^R*. En la raza Assaf se observaron varios machos prolíficos, sin embargo, el bajo número de hijas con que contaban y la escasa información de parientes no fueron determinantes para considerarlo como machos candidatos.

Los machos considerados candidatos presentaron varios indicios que nos instan a pensar en que pudieran ser portadores de un gen mayor para prolificidad. Todos ellos presentan un valor genético elevado y la prolificidad media de sus hijas es más elevada que la media de las hijas del resto de los machos de la población. La tabla 2 muestra los machos candidatos junto con los valores de prolificidad mencionados.

Las distribuciones de frecuencias de la prolificidad de las hijas de los machos candidatos si-

guieron un patrón diferente al de la población. En esta última se observa solo una frecuencia máxima, la que se produce en una prolificidad de 1,40, mientras que en las distribuciones de los candidatos se observan dos frecuencias máximas apareciendo algunas de ellas con prolificidades más elevadas como 1,8 y 2,0. La figura 1 muestra las distribuciones de la población y la de cada uno de los candidatos. En términos generales, cuando un gen tiene un "efecto grande" sobre un carácter se altera la variación continua del mismo.

Una mutación mendeliana clásica implica un efecto mayor a tres desviaciones típicas fenotípicas (σ_p) sobre la media poblacional del carácter, sin embargo, en el contexto de los caracteres cuantitativos, efectos de 0,5 – 1,0 desviaciones típicas sobre la media son considerados "grandes". Cuando el efecto es ma-

Tabla 2. Machos seleccionados como candidatos en raza Manchega y sus valores de prolificidad, valor genético y repetibilidad
Table 2. Males selected as candidates in Manchega breed and values of prolificacy, breeding value and repeatability

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

n: número de registros de partos

PROLF: Prolificidad

DS: Desviación típica

IC: Intervalo de confianza para la media al 99%

VG: Valor genético

r_i : Coeficiente de repetibilidad

MNORMAL: Resto de los machos de la población

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

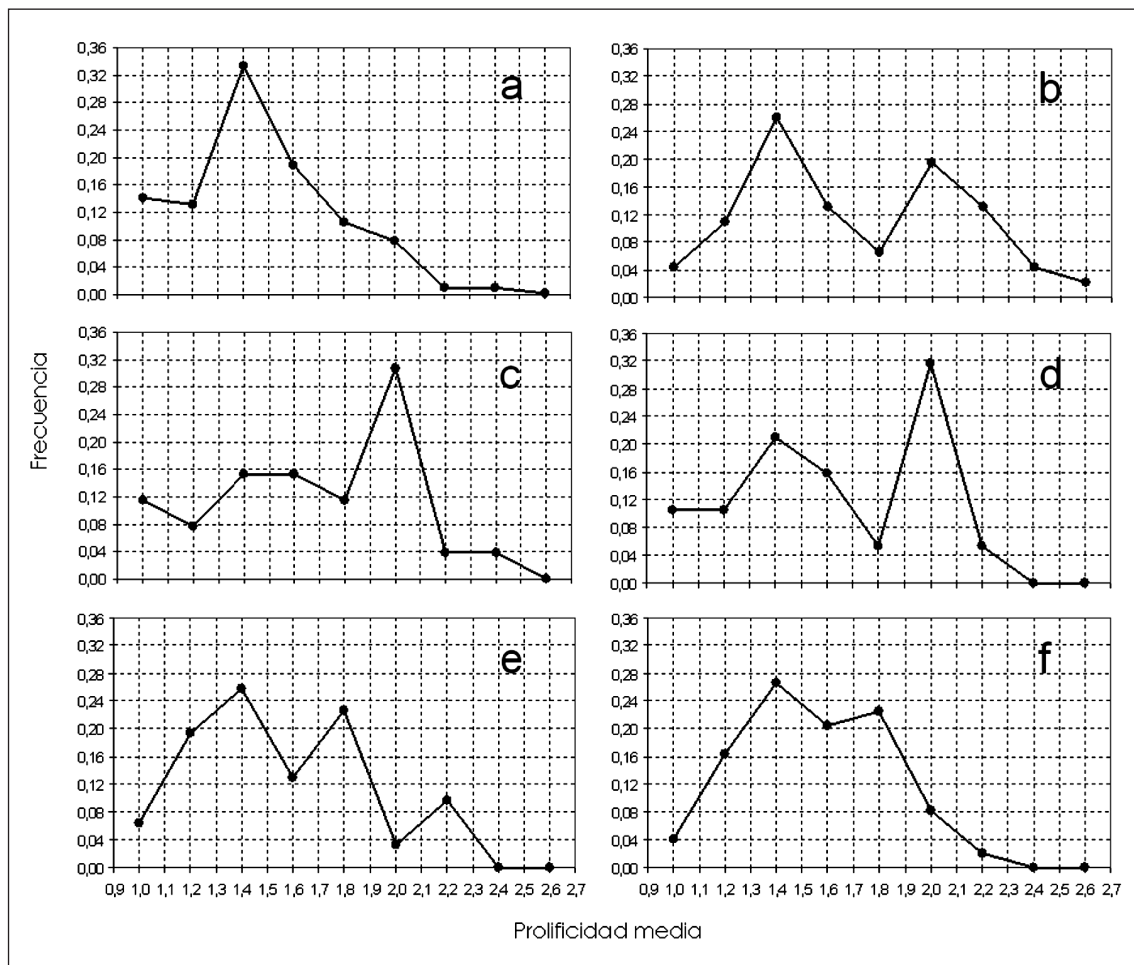


Figura 1. Distribución de frecuencias de la prolificidad de todas las ovejas de la población manchega (a) y de las hijas de los machos candidatos MACH701 (b), MACH702 (c), MACH703 (d), MACH704 (e) y MACH705 (f).

Figure 1. Frequency distribution of prolificacy of all ewes in the population of Manchega (a) and daughters of male candidates MACH701 (b), MACH702 (c), MACH703 (d), MACH704 (e) and MACH705 (f).

yor a $3\sigma_p$ se pueden producir distribuciones multimodales y cuando el efecto es menor se puede detectar una falta de normalidad en la distribución (Falconer y Mackay, 1996). Esta característica fue observada también en los estudios previos a la identificación del alelo $FecX^R$ en la población Rasa-aragonesa,

donde Jurado y Calvo (2007) observaron que los machos, que posteriormente fueron confirmados para el alelo en cuestión, presentaban gráficas de la prolificidad de sus hijas con dos picos claramente marcados.

Por otra parte, el análisis de la estructura de parentesco mostró importantes diferencias

fenotípicas entre los familiares de los machos candidatos. La tabla 3 muestra los parientes de cada candidato que mostraron mayores diferencias en prolificidad. En este sentido, creemos destacable que medios her-

manos difieran tanto en prolificidad, como el caso del candidato MACH703 y su hermano MACH327, las hermanas por parte de madre del macho MACH704 o las hermanas de la madre del candidato MACH705. La diferencia

Tabla 3. Machos candidatos y parientes que presentaron mayores diferencias en prolificidad
Table 3. Males candidates and relatives who have greater differences in prolificacy

Individuo	Parentesco	VG	PROLF
MACH701	Candidato	0,1882	1,72
HEMB148	Madre	0,0299	1,75
HEMB143	Hermana por parte de madre	0,0496	1,25
HEMB189	Hermana por parte de madre	0,0682	1,67
MACH702	Candidato	0,0119	1,69
MACH268	Hermano por parte de padre	0,0163	1,86
HEMB213	Hermana del padre	-0,0142	1,33
HEMB201	Hermana del padre	0,0489	2,25
MACH703	Candidato	0,0730	1,62
MACH327	Hermano por parte de padre	-0,0553	1,33
HEMB318	Hermana del padre	0,0575	1,88
HEMB938	Hermana del padre	0,0248	1,00
MACH704	Candidato	0,0309	1,59
HEMB405	Madre	0,0334	2,00
HEMB429	Hermana por parte de madre	0,0840	2,75
HEMB432	Hermana por parte de madre	-0,0849	1,14
MACH705	Candidato	0,1105	1,56
MACH526	Hermano por parte de padre	0,0091	1,38
HEMB541	Madre	0,1287	2,33
HEMB538	Hermana por parte de madre	0,1070	2,29
HEMB587	Hermana de la madre	-0,0013	1,33
HEMB578	Hermana de la madre	-0,0061	1,00

VG: Valor genético

PROLF: Prolificidad

en prolificidad también se correspondía con los valores genéticos de dichos parientes. Se observó que los parientes con mayor prolificidad tenían mayores valores genéticos y aquellos con baja prolificidad, valores genéticos bajos o negativos. Al respecto, Martínez-Royo *et al.* (2008) estudiaron en Rasa-aragonesa la relación entre valores genéticos elevados y la presencia del alelo *FecX^R* encontrando una asociación entre los valores genéticos más altos y ovejas que posteriormente fueron confirmadas heterocigotas para el alelo. También analizaron los animales que poseían los valores genéticos más bajos y en ningún caso se detectó el alelo favorable.

Otro aspecto a considerar es el mayor coeficiente de repetibilidad que presentan los candidatos respecto del resto de los machos de la población, sobre todo el de los machos MACH701, MACH703 y MACH704, como se muestra en la tabla 2. Estudios similares (Davis *et al.*, 1991; Malher y Le Chère, 1998; Bordin *et al.*, 2002) han utilizado este índice a nivel de tasa de ovulación para demostrar la presencia de un gen mayor. En estos estudios, los altos valores de algunos machos eran similares a los obtenidos en estudios con razas en que sí segregan genes mayores para prolificidad y, por tanto, concluyeron que era muy probable que un gen con gran efecto sobre la tasa de ovulación estuviera segregando en esas poblaciones.

Respecto de la posibilidad de existencia de un gen mayor ligado al cromosoma X, no se observaron las características típicas del modo de herencia de este tipo de genes, aunque no se podría descartar con seguridad la existencia de alguno de ellos si los hubiere, ya que la mayoría de éstos causa infertilidad de las hembras que estén en homocigosis y, por tanto, es muy probable que en esa condición sean desechadas por los ganaderos y, en consecuencia, no consideradas en el registro de producciones. Lo que se observó en este estudio fue la transmisión de un posible gen

autosómico, ya que hijos de un determinado macho diferían de forma importante en prolificidad. Esta diferencia quedó de manifiesto al observar sus gráficas de distribución de frecuencias, que presentaban dos picos en hijos prolíficos y uno en aquellos con prolificidad normal. Ésto nos hace pensar que de existir un gen en esos individuos, pudieran haberlo heredado del padre, dado que por vía materna no se encontró evidencia para pensar lo contrario. Esta característica solo es posible en caso de que el gen no se encuentre ligado al cromosoma X.

Conclusiones

Si bien las características o indicios encontrados en estos machos, por sí solas o en su conjunto, no constituyen una evidencia concreta de la presencia de un gen mayor, si podemos concluir lo siguiente:

- a) Existen indicios de la posible existencia de un gen mayor en cinco machos de la raza Manchega.
- b) Se sugiere el genotipado de los candidatos y/o de alguno de sus parientes para determinar la presencia/ausencia de algún polimorfismo de los genes mayores que hasta la actualidad se han identificado.
- c) El presente estudio corresponde a una primera aproximación para posteriormente utilizar métodos mas refinados sobre los animales candidatos, como el análisis de segregación y/o el uso de herramientas de genética molecular.

Agradecimientos

Trabajo correspondiente a parte de la tesis de master presentada en la Universidad Politécnica de Valencia el 21/09/2011. Los autores

agradecen a la Cooperativa de Carnes Oviaragón, Asociación Nacional de Criadores de Raza Navarra (ARANA), Asociación nacional de Criadores de Ganado Ovino Selecto de Raza Manchega (AGRAMA) y la Asociación Nacional de Criadores de Ganado Ovino de Raza Assaf por facilitar las bases de datos para el estudio y a la Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica de Chile (CONICYT) por la financiación.

Bibliografía

- Bodin L, SanCristobal M, Lecerf F, Mulsant P, Bibe B, Lajous D, Belloc JP, Eychehenne F, Amigues Y, Elsen JM, 2002. Segregation of a major gene influencing ovulation in progeny of Lacaune meat sheep. *Genet. Sel. Evol.* 34: 447-464.
- Bodin L, 2006. Genes mayores en ganado ovino, implicaciones en la reproducción. *Revista Pequeños Rumiantes* 7 (3): 38-45.
- Davis GH, McEwan JC, Fennessy PF, Dodds KG, Farquhar PA, 1991. Evidence for the presence of a major gene influencing ovulation rate on the X-chromosome of sheep. *Biol. Reprod.* 44: 620-624.
- Davis GH, 2005. Major genes affecting ovulation rate in sheep. *Genet. Sel. Evol.* 37(Suppl 1): S11-S23.
- Falconer DS, Mackay TFC, 1996. *Genética cuantitativa*. Cuarta edición. ACRIBIA, S.A. Zaragoza, España.
- Groeneveld E, Kovač, M, Mielenz N, 2008. *VCE User's guide and reference manual*. Version 6.0
- Jurado JJ, Hernández D, Serrano M, 1991. Catálogo de software de interés en agricultura. Programa 248 BLUP-AM. p. 142. Fundesco, IRYDA, MAPA. España.
- Jurado JJ, Calvo JH, 2007. ¿Un gen de gran efecto para prolificidad en raza Raza-Aragonesa? *ITEA* 28: 504-506.
- Jurado JJ, Martinez-Royo A, Calvo JH, 2008. Efecto fenotípico del alelo BMP15/FecX^R en la prolificidad de la población de CarnesOviaragón S.C.L. *ITEA* 104 (2): 149-154.
- Jurado JJ, Calvo JH, Muñoz R, 2012. Variantes génicas de alta prolificidad. *Revista Albeitar* 155. pp. 12-13.
- Martinez-Royo A, Jurado JJ, Smulders JP, Marti JJ, Alabart JL, Roche A, Fantova E, Bodin L, Mulsant P, Serrano M, Folch J, Calvo JH, 2008. A deletion in the bone morphogenetic protein 15 gene causes sterility and increased prolificacy in Rasa Aragonesa sheep. *Anim. Genet.* 39: 294-297.
- Malher X, Le Chere AK, 1998. High prolificacy in Belle-Ile sheep (Brittany, France): major effects of a putative single gene and the Awh colour gene on ovulation rate and litter size. *Reprod. Nut. Dev.* 38: 473-484.
- Montaldo H, Kinghorn B, 2000. Detección y uso de genes mayores en animales. *Acta Universitaria* 10 (2): 9-17.
- Pardos L, Fantova E, Bru CH, Buñuel M, Cuartielles I, Larraz V, 2010. Influencia de la presencia del alelo ROA y de la selección por prolificidad poligénica en los resultados económicos de explotaciones ovinas de carne en Aragón. p. 461-465. EN: XXXV Congreso de la sociedad española de ovinotecnia y caprinotecnia (SEOC). Valladolid, 22, 23 y 24 de Septiembre de 2010. Valladolid, España.
- Smith C, 1985. Utilization of major genes. p.151-158. EN: Land, R.B. y Robinson, D.W. (Eds.). *Genetics of Reproduction in Sheep*. Butterworths. Londres, Inglaterra.

(Aceptado para publicación el 18 de junio de 2012)