

**ASOCIACIÓN DE DOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS EN LOS GENES
BMP15 Y GDF9 CON LA PROLIFICIDAD NATURAL EN OVINOS DE PELO
CRIOLLOS COLOMBIANO**

RAFAEL PINEDA PRASCA

**UNIVERSIDAD DE SUCRE
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
PROGRAMA DE ZOOTECNIA
SINCELEJO 2017**

**ASOCIACIÓN DE DOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS EN LOS GENES
BMP15 Y GDF9 CON LA PROLIFICIDAD NATURAL EN OVINOS DE PELO
CRIOLLOS COLOMBIANO**

RAFAEL PINEDA PRASCA

**Trabajo de grado presentado para optar al título de
ZOOTECNISTA**

**DIRECTOR:
DARWIN HERNÁNDEZ HERRERA. *Zoot., M.Sc., Ph.D***

**CODIRECTOR:
DONICER MONTES VERGARA. *Zoot., M.Sc., Ph.D***

Grupo de Investigación en Reproducción y Mejoramiento Genético Animal

**UNIVERSIDAD DE SUCRE
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
PROGRAMA DE ZOOTECNIA
SINCELEJO 2017**

Nota de aceptación:

Firma del jurado 1

Firma del jurado 2

Sincelejo, Noviembre de 2017

DEDICATORIA

Quiero dedicar este trabajo con todo mi cariño a las siguientes personas:

A mis padres Julio y Martha

A mis hermanos Julio C y Yulieth

A todos mis tíos, tías, demás familiares y amigos

Por ser los pilar que me ayudaron a fórjame en mis estudio y a seguir adelante.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a DIOS sobre todas las cosas porque me acompaño en todos los momentos difíciles y me ayudo a salir adelante, por darme salud, por permitirme realizar un sueño y por todas las bendiciones que me ha dado.

Nuevamente agradecer a mis padres, hermanos y familiares, por ser el pilar más impórtate y brindarme en todo momento su apoyo y cariño incondicional. También por haberme inculcado valores y la oportunidad de tener una gran educación, prometo no defraudarlos jamás.

Agradecer también por todo el apoyo, tiempo, dedicación y paciencia al profesor Darwin Yovanny Hernandez Herrera Zoot, M.Sc, Ph.D quien fue mi director de tesis y quien me estuvo guiando en este proceso, a él una y mil gracias.

A mis compañeros y amigos incondicionales Delvis Mendoza, Cristian Nazzer y Enuar Redondo, con los que compartí gratos momentos, penas y pesares pero que en todas salimos adelante a ellos un sincero agradecimiento.

Agradecer a todos los productores quienes nos prestaron el recurso ovino en especie y así la facilidad necesaria para llevar a cabo esta investigación. A la Universidad de Sucre, quien dentro de sus instalaciones pude realizar esta investigación, al Semillero de investigación en Reproducción y Mejoramiento Genético (SIREME) al cual pertenezco. Por último agradecer a todos los que en algún momento me brindaron su apoyo de cualquier forma y sinceramente ofrecerles disculpa a aquellas persona no mencione, no fue mi intención.

“Vivencias de una etapa llena de historias”

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	12
2. OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo general.....	15
2.2 Objetivos específicos	15
3. MARCO TEÓRICO	16
3.1 Origen de los ovinos en Colombia	16
3.2 Producción ovina en Colombia	17
3.2.1 Parámetros productivos	18
3.2.2 Parámetros reproductivos.....	20
3.3 Factores que afectan la prolificidad en ovinos	20
3.3.1 Factores de tipo no genéticos	21
3.3.2 Factores de tipo genético	23
3.4 El gen BPM15	24
3.4.1 Efectos positivos del alelo $FecX^R$ del gen BPM15	28
3.5 El gen GDF9	29
3.6 Marcadores moleculares.....	30
4. METODOLOGÍA	32
4.1 Objetivo específico 1: Caracterizar molecularmente los polimorfismos $FecX^R$ del gen BPM15 y $FecG^I$ del gen GDF9	32
4.1.1 Tamaño de muestra, sitios de muestreo, animales y colecta de sangre.	32
4.1.2 Extracción y cuantificación del ADN.....	33
4.1.3 Amplificación por PCR de los fragmentos de interés.	34
4.1.4 Genotipado	35
4.1.5 Electroforesis.....	36
4.1.6 Análisis de datos moleculares	37
4.2 Objetivo específico 2: Asociar los polimorfismos $FecX^R$ y $FecG^I$ de los genes BPM15 y GDF9 respectivamente, con la prolificidad natural en ovinos de pelo criollos colombiano y determinar algunos efectos no genéticos que afectan la prolificidad	38
4.2.1 Tamaño de muestra, sitio de muestreo y colecta de datos.	38
4.2.2 Análisis de los datos	38
5. RESULTADOS	40

5.1	Caracterización molecular de los polimorfismos FecX ^R del gen BMP15 y FecG ^I del gen GDF9.	40
5.2	Asociación de los polimorfismos FecX ^R y FecG ^I de los genes BMP15 y GDF9 respectivamente, con la prolificidad natural en ovinos de pelo criollos colombiano y determinación de algunos efectos no genéticos que afectan la prolificidad.	45
6.	DISCUSIÓN.....	50
6.1	Caracterización molecular de los polimorfismos FecX ^R del gen BMP15 y FecG ^I del gen GDF9.	50
6.2	Asociación de los polimorfismos FecX ^R y FecG ^I de los genes BMP15 y GDF9, respectivamente, con la prolificidad natural en ovinos de pelo criollos colombiano y determinación de algunos efectos no genéticos que afectan la prolificidad.	56
7.	CONCLUSIONES.....	64
8.	RECOMENDACIONES	65
9.	BIBLIOGRAFÍA	66

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Parámetros productivos e incorporación tecnológica.....	19
Tabla 2. Principales polimorfismos que afectan la prolificidad en ovino.	27
Tabla 3. <i>Fincas, códigos de finca, ubicación y tamaño de muestra por finca y total.</i>	33
Tabla 4. Cebadores utilizados para la amplificación de los polimorfismos de interés.	34
Tabla 5. Frecuencias alélicas y genotípicas de los <i>loci</i> FecX ^R y FecG ^I en cada una de las fincas estudiadas.	41
Tabla 6. Valores de Ho, He y F, para el locus FecG ^I y sumatoria de los dos loci FecX ^R + FecG ^I	42
Tabla 7. Análisis de varianza molecular y estadísticos F de Wrigth.	43
Tabla 8. Distancias genéticas por pares de fincas.....	43
Tabla 9. Estadística descriptiva de las variables evaluadas.....	45
Tabla 10. Análisis de varianza para prolificidad en el aprisco Villa Jordán.....	46
Tabla 11. Efecto de los factores genéticos y no genéticos sobre la prolificidad en el aprisco estudiado.	46
Tabla 12. Prolificidad promedio encontrada de acuerdo al genotipo en el locus FecG ^I	47
Tabla 13. Prolificidad promedio encontrada de acuerdo al número de parto de la hembra.....	47
Tabla 14. Prolificidad promedio encontrada de acuerdo al padre.....	47
Tabla 15. Prolificidad promedio encontrada de acuerdo al año de concepción.....	48
Tabla 16. Prolificidad promedio encontrada de acuerdo al mes de concepción.....	48
Tabla 17. Prolificidad promedio encontrada de acuerdo a la época de concepción.	48
Tabla 18. Correlaciones de Pearson y valores de probabilidad para todas las variables estudiadas.	49
Tabla 19. Frecuencias alélicas y genotípicas del locus FecGI en diferentes razas alrededor del mundo.	51
Tabla 20. Valores de diversidad (He) y F estimadas a partir de las frecuencias alélicas reportadas en diversas razas.....	54
Tabla 21. Valores de prolificidad en distintas razas alrededor del mundo.....	59

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Genotipos <i>locus</i> <i>FecX^R</i> . Carril 1: marcador de 100 pares de bases; Carriles 2 al 6 genotipo homocigoto <i>FecX⁺/FecX⁺</i>	36
Figura 2. Genotipos <i>locus</i> <i>FecG^I</i> . Carril 1: marcador de 100 pares de bases; Carril 2: producto de PCR sin digestión enzimática; Carriles 3 al 7: genotipo homocigoto <i>FecG⁺/FecG⁺</i> ; Carriles 8 y 9: Genotipo heterocigoto <i>FecG⁺/FecG^I</i>	37
Figura 3. Dendrograma de distancias genéticas entre las fincas estudiadas usando el algoritmo UPGMA.	44

RESUMEN

La presente investigación tuvo por objetivo asociar los polimorfismos genéticos $FecX^R$ y $FecG^I$ de los genes BMP15 y GDF9, respectivamente con la prolificidad natural en ovinos criollos de pelo colombiano (OPC). Para ello, se extrajo ADN a 150 animales usando un kit comercial. Se realizó genotipificación mediante PCR directa para el *locus* $FecX^R$ y mediante PCR-RFLP el *locus* $FecG^I$. Se asociaron estos polimorfismos con la prolificidad encontrada mediante el análisis de registros productivos de 59 ovejas adultas para un total de 145 partos pertenecientes a un aprisco comercial. Un modelo lineal generalizado (GLM) de efectos fijos fue utilizado, donde se determinó que factores genéticos y no genéticos afectaban la prolificidad. El *locus* $FecX^R$ resultó ser monomórfico con la ausencia del alelo mutado, razón por la cual no se realizó el análisis de asociación de este *locus* con la prolificidad. El *locus* $FecG^I$ del gen GDF9 fue polimórfico con frecuencias de $FecG^+ = 0,89$ y $FecG^I = 0,11$. El genotipo homocigoto $FecG^I/FecG^I$ no se encontró y los genotipos $FecG^+/FecG^+$ y $FecG^+/FecG^I$ tuvieron frecuencias de 0,78 y 0,22, respectivamente. La H_o fue mayor que la H_e , este exceso de heterocigotos no fue significativa entre las fincas y en toda la población de OPC analizada. La varianza genética entre fincas fue de 1% y el F_{ST} fue de 0,008 ($P > 0,05$). La finca La Diana fue la más alejada genéticamente hablando. La prolificidad promedio encontrada fue de $1,30 \pm 0,30$. El genotipo en el *locus* $FecG^I$ no afectó significativamente la prolificidad ($P > 0,05$), aunque esta fue mayor en los heterocigotos. Los efectos no genéticos analizados número del parto de la madre, mes, la época y el año de concepción no afectaron significativamente la prolificidad, solo el padre la afectó ($P = 0,018$)

Palabras clave: recursos zoogenéticos, efectos genéticos y no genéticos, prolificidad.

ABSTRACT

The objective of the present investigation was to associate the $FecX^R$ and $FecG^I$ genetic polymorphisms of the BMP15 and GDF9 genes, respectively, with the natural prolificacy in Creole sheep of Colombian hair (OPC). For this, DNA was extracted to 150 animals using a commercial kit. Genotyping was performed by direct PCR for the $FecX^R$ locus and by PCR-RFLP the $FecG^I$ locus. These polymorphisms were associated with the prolificacy found through the analysis of productive records of 59 adult sheep for a total of 145 births belonging to a commercial sheepfold. A generalized linear model (GLM) of fixed effects was used, where it was determined that genetic and non-genetic factors affected prolificacy. The $FecX^R$ locus was found to be monomorphic with the absence of the mutated allele, which is why the association analysis of this locus with prolificacy was not performed. The $FecG^I$ locus of the GDF9 gene was polymorphic with frequencies of $FecG^+ = 0.89$ and $FecG^I = 0.11$. The homozygous $FecG^I/FecG^I$ genotype was not found and the $FecG^+/FecG^+$ and $FecG^+/FecG^I$ genotypes had frequencies of 0,78 and 0,22, respectively. The H_o was greater than the H_e , this excess of heterozygotes was not significant between the farms and in the entire population of OPC analyzed. The genetic variance between farms was 1% and the F_{ST} was 0,008 ($P > 0,05$). The La Diana farm was the furthest away genetically speaking. The average prolificacy found was $1,30 \pm 0,30$. The genotype in the $FecG^I$ locus did not significantly affect prolificacy ($P > 0,05$), although this was greater in the heterozygotes. The non-genetic effects analyzed, the number of birth of the mother, month, time and year of conception did not significantly affect the prolificacy, only the father affected it ($P = 0.018$).

Key words: zoogenetic resources, genetic and non-genetic effects, prolificacy.

1. INTRODUCCIÓN

El ovino es un animal cuya distribución es amplia por todo el mundo, se le encuentra en todos los climas y ecologías. Gracias a esta especie se han podido aprovechar extensas áreas de pasturas pobres para otras especies, especialmente vacunos. Se cree que las ovejas domesticas (*Ovis aries*) son descendientes de estirpes salvajes que aún existen y que son interfértiles con las ovejas domesticas, este ancestro en común es el Muflón, del cual aún se conservan poblaciones salvajes como el caso del Muflón asiático distribuido por las montañas de Asia menor y el sur de Irán, el Muflón Europeo del cual solo existen algunos en las islas de Sardinia y Corsica. Actualmente existen más de 200 razas de ovinos sin considerar un gran grupo de cruces sintéticos, el cual se obtiene al cruzar dos o más razas establecidas. Sin embargo, las razas ovinas las podemos agrupar como productoras de piel entre las cuales podemos encontrar la Karacul; productoras de leche, como la Manchega, Churra española, Awassi, Assaf y East Friesian; productoras de lana como la Merino, Lincoln, Corriedale, Finsheep, Columbia y la Rambouillet y por ultimo las productoras de carne como la Texlel, Hampshire, la Down, Sulfock, Dorset, Cheviot, Southdown. Dentro de esta última categoría se puede agrupar al ovino de pelo criollo colombiano (OPC).

Los ovinos que se trajeron durante los viajes de Colón, constituyeron la base racial del ganado en América, y estos por no poseer un esquema de producción se reprodujeron dando lugar a un mestizaje que perduró por siglos, con el paso del tiempo estos cruces constituyeron lo que hoy día se conoce como los ovinos criollos de los cuales aún se conservan en pequeños grupos en América (VIVAS, 2013).

Se hace necesario aprovechar el momento coyuntural que presenta el ovino hoy día en Colombia como una de las especies promisorias para el sector pecuario. En los últimos tres años el inventario animal creció un 17,3%, así el número de animales en el Departamento de Sucre es de 32733 (ICA, 2016). De otro lado, el consumo de

carne de ovina en el país, tiene la tasa de crecimiento de consumo más alta que las carnes de pollo, res, cerdos y pescado, aumentando aproximadamente 500 gramos por persona/año.

A pesar de lo anterior, en nuestro país, la mayoría de las producciones ovinas están a cargo de los pequeños productores, los cuales desempeña un papel importante en la economía y seguridad alimentaria en las zonas rurales, obteniendo como productos principales carne y lana. Dichos sistemas de producción tienen problemas de nutrición, reproducción, sanidad, de praderas, desordenados planes de mejora genética, instalaciones inadecuadas y escasa visión empresarial, que se reflejan en baja ganancia diaria de peso (80-120 g/día) y bajo número de corderos/hembra/parto ($1,35 \pm 0,54$) (CUELLAR *et al.*, 2015).

La creciente demanda de carne y el aumento en la tasa de producción ovina, junto a los problemas descritos anteriormente, nos suponen problemas futuros para suplir dicha demanda. Una posible solución a este fenómeno consiste en aumentar la eficiencia reproductiva de los rebaños. El aumento en la cantidad de corderos nacidos por oveja por parto (prolificidad) se considera como una de las opciones más viables para aumentar dicha eficiencia. Sin embargo, la prolificidad puede ser afectada por varios factores como la raza, la genética, la consanguinidad, las condiciones climáticas, la edad del animal, el manejo, la nutrición, los niveles hormonales y la sanidad, entre otros (VIÑOLES *et al.*, 2009).

Estudios genéticos sobre la prolificidad de los ovinos, han demostrado que está directamente relacionada con la tasa de ovulación. La tasa ovulatoria está determinada por la acción de genes únicos, llamados genes de la fecundidad (Fec) (DAVIS, 2005). Uno de estos genes está localizado en el cromosoma X y se denomina *FecX*, el gen en este *locus* es el de la proteína morfogénica ósea 15 (*Bone Morphogenetic Protein 15* - BMP15). Otro gen relacionado es el GDF9 (Growth Differentiation Factor 9) que se encuentra en el cromosoma 5 (LAHOZ *et al.*, 2014).

De acuerdo a lo anterior, la caracterización del alelo *FecX^R* y *FecG^I* su asociación con la prolificidad, en la oveja de pelo criolla colombiana son una posible solución a los problemas de baja prolificidad y dará importancia al recurso genético criollo, generando así, razones para su conservación y utilización en futuros programas de mejoramiento genético animal asistido por genes.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Asociar los polimorfismos genéticos FecX^R y FecG^I de los genes BMP15 y GDF9 respectivamente con la prolificidad natural en ovinos criollos de pelo colombiano.

2.2 Objetivos específicos

1. Caracterizar molecularmente los polimorfismos FecX^R del gen BMP15 y FecG^I del gen GDF9.
2. Asociar los polimorfismos FecX^R y FecG^I de los genes BMP15 y GDF9 respectivamente, con la prolificidad natural en ovinos de pelo criollo colombiano y determinar algunos efectos no genéticos que afectan la prolificidad.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 Origen de los ovinos en Colombia

Los ovinos al igual que otros animales domésticos, no son originarios del continente americano. Estos animales llegaron desde España, primero en calidad de alimento por los navegantes y conquistadores, y luego como pie de cría por los primeros colonos y religiosos (LIRON *et al.*, 2006). Según MUÑOZ y BARAJAS (2000), los primeros ovinos que pisaron tierra americana partieron de la Gomera (Islas Canarias) y desembarcaron en la Española (Santo Domingo) en 1493. En diciembre del mismo año, parte de los ovinos que llegaron en la citada embarcación, fueron trasladados a Isabela (Cuba). La fase realmente importante para los ovinos en América, al igual que para caprinos y bovinos, fue sin duda la colonización, ya que en ella las familias implantadas en el nuevo mundo llevaron consigo su patrimonio genético animal y también sus sistemas de producción (DELGADO *et al.*, 2009).

Se cree que las primeras razas introducidas fueron la Churra, la Manchega, la Rasa y la Canaria y posteriormente la Merino. Estos animales se multiplicaron rápidamente y dieron origen a las poblaciones actuales. A Colombia, los animales entraron por la costa del Caribe, probablemente por la Guajira, dieron origen al denominado ovino criollo, actualmente denominado por ASOOVINOS como Ovino de Pelo Colombiano (OPC). (LOZANO, 2014). Colombia cuenta con dos razas ovinas criollas, denominadas como de lana y de pelo. La primera de gran importancia económica para Boyacá, Cundinamarca, Nariño y Santander; la segunda se encuentra principalmente en la Guajira, Costa Atlántica, Llanos Orientales, Tolima, Valle del Cauca y Huila. Además se cuenta con una raza sintética llamada Mora Colombiana (CORPOICA, 2003).

La población de ovejas en Colombia, para el 2005, consistía en un total de 2,3 millones de animales y con una tasa de crecimiento negativa -1 (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Observatorio de Agrocadenas Colombianas, 2006). Sin embargo, para el año 2012 según el censo realizado por el Instituto Colombiano

Agropecuario ICA el inventario ovino nacional se estimó en 1.142.893 animales, y para el 2016 el inventario ovino en Colombia según ICA aumento en un total de 1.423.466 animales (ICA, 2016). Su producción ha estado tradicionalmente vinculada a una “economía de subsistencia” de bajo uso de insumos y relacionada con sistemas tradicionales y artesanales de producción, de tal forma que se concentra en pequeños rebaños, formados básicamente por sangre criolla en un 80 a 85 % mestizos en un 10 a 15% y solo el 5% corresponde a los animales de razas puras o foráneas (GRAJALES y TOVÍO, 2010).

3.2 Producción ovina en Colombia

Colombia es variable en cuanto a clima y geografía, lo que permite tener sistemas productivos de diferentes especies para la producción de proteína como fuente principal de alimentación para los humanos, entre estos se encuentran los ovinos, los cuales se adaptan a diferentes regiones de Colombia. Sin embargo, la zona de la Guajira tiene la mayor actividad en esta producción y es la principal comercializadora de animales de pie de cría hacia otras regiones del país (CASTELLANOS *et al.*, 2010).

El ICA para el año 2015 indica la existencia de 1.318.241 ejemplares que agrupan el 73,39% del total distribuidos en los departamentos de La Guajira (46,69%), Boyacá (8,04%), Magdalena (7,71%), Córdoba (5,55%) y Cesar (5,41%), teniendo el valle 8.459 animales que representan el 0.64% del total de los ovinos.

En Colombia se pueden distinguir tres sistemas de producción de ovinos:

1. Sistema intensivo: promedio de animales entre 10 y 40, nivel tecnológico medio y razas como Hampshire, Romeney, Marsh y ovinos de pelo.
2. Semi-extensivo: es predominante de los Llanos Orientales, Tolima y Santander, nivel tecnológico medio, animales para autoconsumo y pie de cría, utilizan ovinos de pelo mestizo y cruzado o introducido.

3. Sistemas extensivos: número de ovinos variable, ubicados en la Guajira y Cesar, producen carne, lana y pie de cría con ovinos criollos y mestizos de razas introducidas (MARTÍNEZ, *et al.*, 2009a).

El mejoramiento genético se ha venido realizando con material genético importado y animales criollos de pie de cría; el departamento de la Guajira es uno de los mayores comercializadores de pie de cría, con un alto número de corderos sacrificados para el comercio y exportación de carne (CASTELLANOS *et al.*, 2010).

La mejora genética que se ha logrado producto del cruzamiento entre animales especializados con animales criollos en aspectos reproductivos, mayor calidad y rendimiento en canal, ha incentivado a los productores a aumentar su sistema productivo (GONZÁLEZ, 2011).

Se han introducido razas de ovinos tanto de pelo (Katahdyn, Dorper, Pelibuey y Santa Ines) y lana (Hampshire, Dorset, Suffolk, Texel), para producir cruces absorbentes y mejorar algunos parámetros productivos y reproductivos (CASTELLANOS *et al.*, 2010).

3.2.1 *Parámetros productivos*

Los parámetros productivos nacionales relacionados con el nivel tecnológico actual, muestran el proceso de transición que está atravesando la ovinocultura de tecnología baja a media (Tabla 1).

El ovino Criollo Colombiano reporta un índice adecuado de natalidad (96%) y mortalidad (8.9%) al destete. El efecto del sexo y el número de crías por parto afecta en gran medida las variables de crecimiento de ahí que los machos y los partos simples presentan mayores pesos al año (MARTÍNEZ *et al.*, 2009a).

En ovinos de pelo en caracteres reproductivos se tiene datos de edad primer parto 20 meses, intervalos entre partos 280 días y prolificidad de 1,41 nacimientos por parto (MARTÍNEZ *et al.*, 2009a).

Tabla 1. Parámetros productivos e incorporación tecnológica.

Parámetros productivos	Promedio	Tipo de tecnología
Peso al nacer (Kg)	2,5	Media
Edad al destete (días)	60	Media
Peso al destete (Kg)	15	Media
Ganancia de peso (g)	80-160	Media
Mortalidad predestete (%)	>15	Baja
Mortalidad posdestete (%)	>8	Baja
Mortalidad para ceba (%)	>20	Baja
Mortalidad adultos (%)	>3	Baja
Peso primer servicio (Kg)	35	Media
Partos (hembra/año)	1	Baja
Crías (parto)	1	Baja
Crías destete (parto)	1	Baja
Edad de sacrificio (días)	240	Media
Peso al sacrificio (Kg)	30	Media
Rendimiento en canal (%)	50	Media
Edad de descarte (años)	>6	Baja

Modificado de ARÉVALO y CORREA, 2013.

Según el CASTELLANOS *et al.*, (2010), en el 2009, se sacrificaron formalmente 13.094 ovinos entre machos (6.718) y hembras (6.376) con un peso en pie al momento del sacrificio de 268.589 Kg para machos y 248.115 Kg en hembras, peso en canal de 128.932 y 122.783, respectivamente y un rendimiento superior en hembras (49.5%) que en machos (48%).

Para el año 2013 el beneficio formal fue de 264 toneladas de carne ovina (MADR, 2014). El sacrificio informal de ovinos realizados en fincas y mataderos de plazas es una limitante de la comercialización de carne, ya que no hay plantas de beneficio que cumpla con esta función, la cual le aportaría un valor agregado a la carne dejando mejor rentabilidad al productor (GONZÁLEZ, 2011).

3.2.2 Parámetros reproductivos

Es necesario en toda explotación de ovinos el establecimiento de parámetros reproductivos que indiquen si estos son los adecuados e instaurar las posibles diferencias entre las razas importadas y las criollas para crear y aplicar estrategias para optimizar las producciones pecuarias.

Este aspecto es importante para un enfoque general en parámetros reproductivos reportados en Colombia, donde la pubertad se presenta aproximadamente entre los 6 y los 9 meses; el ciclo estral tiene una duración de 17 días; el estro tiene una duración de 26 a 36 horas, y el periodo de ovulación ocurre cerca al final del estro. El diestro tiene una duración aproximada de 13 a 15 días (LOZANO, 2014). Algunos parámetros se presentan en la tabla 1.

El primer servicio del macho se hace cuando este alcanza entre el 40 % al 60 % del peso corporal de los adultos del rebaño. La gestación dura alrededor de 150 días. Posteriormente, de 20 a 30 días tiene lugar la involución uterina, y la recuperación ovárica dura entre 1 y 15 días. Los días abiertos óptimos son 68, el intervalo entre partos es de 240 días. El primer servicio del macho se hace cuando este alcanza entre el 40 al 60% del peso corporal de los adultos del rebaño. La gestación dura alrededor de 150 días; posteriormente, de 20 a 30 días tiene lugar la involución uterina, y la recuperación ovárica dura entre 1 y 15 días. Los días abiertos óptimos son 68, el intervalo entre partos es de 240 días (GRAJALES *et al.*, 2011).

3.3 Factores que afectan la prolificidad en ovinos

La eficiencia reproductiva o el número de corderos destetados por año, es el parámetro más importante en un rebaño de cría. Un elevado porcentaje de destete significa un adecuado número de corderas, que se refleja en aumentando los ingresos de la empresa (BURATOVICH, 2010a). Esta eficiencia reproductiva, se puede evaluar mediante tres principales parámetros:

- **Fertilidad:** Cantidad ovejas preñadas o paridas/ Cantidad ovejas encarneradas.
- **Prolificidad:** Número corderos nacidos vivos / Número de ovejas paridas.
- **Supervivencia:** Número corderos destetados / Número corderos paridos.

De estos tres parámetros la prolificidad es uno de los más estudiados. El aumento de la prolificidad se da principalmente por un aumento en la tasa de ovulación, el número de óvulos fertilizados y la sobrevivencia embrionaria que ocasiona un aumento del número de partos dobles y triples (ALABART *et al.*, 2016)

Diferentes autores desde hace muchos años, evidencian las diferencias de prolificidad entre razas localizadas en ambientes que contrastan. Tal como lo presenta HOHENBOKEN *et al.*, (1976) uno de los primeros trabajos en que se relacionan las interacciones genotipo x ambiente en el análisis de la prolificidad. En donde además, se pueden clasificar los factores que la afectan la prolificidad como genéticos o no genéticos (BURATOVICH, 2010a; BURATOVICH, 2010b).

3.3.1 Factores de tipo no genéticos

La nutrición: La nutrición de la oveja previo al servicio. Una alimentación de calidad, tanto en su contenido de energía como de proteína, influirá notablemente aumentando el número de óvulos liberados en el momento del celo y, por ende, el porcentaje de mellizos y trillizos al parto (BURATOVICH, 2010a).

Este efecto se constata por la amplia difusión que se ha producido en el empleo de la técnica del "Flushing". La misma consiste en un aumento en el nivel de alimentación de las ovejas 30-45 días previos al servicio. De esta forma aumenta sus reservas corporales y se producen cambios metabólico-hormonales, que repercuten en un incremento de la tasa ovulatoria. De todos modos, los efectos de la nutrición sobre el aumento en el número de óvulos no son iguales en todas las razas. La magnitud del incremento en la tasa de ovulación con el aumento de la condición corporal o del nivel de alimentación, es mucho mayor en razas no

prolíficas (Merino), que en razas prolíficas (Frisona, Texel). No obstante, en condiciones de pastoreo existen otras variables que influyen, como la baja disponibilidad de pasto en el potrero y que pueden determinar que la respuesta a la suplementación sea muy variable o, incluso, nula (BURATOVICH, 2010a).

Otro aspecto que condiciona fuertemente la prolificidad de la hembra es la nutrición durante la pubertad de las corderas. Cuanto mejor sea la alimentación de la cordera, mayor será su crecimiento y desarrollo y alcanzará la madurez sexual rápidamente. De este modo, a lo largo de su vida productiva, tendrá un mayor número de partos (BURATOVICH, 2010a).

La condición corporal de la hembra está íntimamente relacionada con el manejo nutricional de la misma. HERRERA *et al.*, (2010) aseguran que en la raza Pelibuey de Cuba, el valor de prolificidad oscila entre 1,2 y 1,7 corderos/parto y se maximiza cuando la hembra tiene notas de condición corporal entre 2,5 y 3,5. Los mismos autores también muestran la variación de la prolificidad en relación al sistema de producción, donde el grado de intensificación afecta dicho valor de forma directa, así, en sistemas intensivos, semi-intensivos y extensivos adquiere valores de 1,42, 1,27 y 1,21 corderos/parto respectivamente.

Periodo de montas o servicio: El periodo o época de montas de servicio, esta intensamente relacionada con la disponibilidad de alimento y estado nutricional de la hembra. En la raza Pelibuey Cubana por ejemplo se registran mejores de valores de fertilidad y prolificidad en época de poca lluvia (HERRERA *et al.*, 2010). De otro lado en países sub tropicales la estacionalidad reproductiva de las ovejas incide directamente sobre la prolificidad, siendo los días del año donde hay mayor duración de la noche que del día las mejores época de reproducción (NOTTER, 2000). Igualmente, se ha demostrado que las altas temperaturas afectan la viabilidad de los embriones (BURATOVICH, 2010b).

Edad de la hembra: La edad de la hembra se puede interpretar de dos formas, la edad cronológica de la misma y como el número de parto (NOTTER, 2000). En general se propone que la prolificidad aumenta progresivamente con la edad y el número parto, pero disminuye rápidamente después de nueve años, lo que sugiere la imposibilidad de usar ecuaciones de regresión lineales y cuadráticas para simular el tamaño de camada. En efecto en general se ha sugerido a un aumento en la capacidad de maduración de folículos con consecuente aumento en la tasa de ovulación. En diferentes razas se ha propuesto que la mayor prolificidad se obtiene alrededor del quinto año (NOTTER, 2000).

Tratamiento hormonal: LAHOZ *et al*, (2014) demostraron como la aplicación de acetato de fluorogestona (480 UI) y gonadotropina coriónica (240 UI) pueden aumentar la tasa de ovulación y la prolificidad de forma similar como lo hace la variante alélica R del gen BPM15.

3.3.2 Factores de tipo genético

Raza: las diferencias son debidas a variaciones en la tasa de ovulación, por ejemplo, razas como la Suffolk producen en promedio tres óvulos por celo (NOTTER, 2000), mientras que, la raza Merino solo produce uno (BURATOVICH, 2010b).

Para la característica prolificidad MOKHTARIA *et al*, (2010) reportaron valores de heredabilidad de $0,01 \pm 0,01$ y de repetibilidad de $0,08 \pm 0,01$. Lo anterior evidencia la necesidad de apoyarse en la selección asistida por genes para mejorar estos parámetros genéticos en ovinos.

Consanguinidad: la elevada consanguinidad en el rebaño disminuye la tasa de ovulación y aumenta la mortalidad embrionaria (BURATOVICH, 2010b).

Genes candidatos con efecto mayor: La variación en la fertilidad, prolificidad y tasa ovulatoria se ha observado en diferentes razas ovinas, lo cual está

genéticamente regulado por un conjunto de genes con acción mayor o aditiva, los cuales pertenecen a la súper familia de los factores de crecimiento transformante beta (TGF- β). Los cambios en las secuencias de los alelos en los genes, incluyen cambios en un nucleótido por otro, que llevan a su vez a cambios en la secuencia de aminoácidos. Lo cual influye en la función de la proteína debido a cambios en sus actividades y plegamiento. Así mismo, se han descrito en estos genes deleciones y mutaciones no sinónimas. Otro tipo de cambios en la secuencia pueden afectar los niveles de expresión génica o la estabilidad del ARN (NOTTER, 2012; LUNA *et al.*, 2014).

Estas variantes genéticas en las ovejas se nombran como Fec (de fecundidad) y a los diferentes alelos se les asignan adicionalmente dos letras que refieren, la primera el nombre del gen y/o cromosoma y la segunda letra en superíndice que hace referencia a la raza (Tabla 2).

Se han identificado polimorfismos en genes específicos como en el gen GDF9 (growth differentiation factor-9) llamado también FecG (cromosoma 5) (HANRAHAN *et al.*, 2004; SILVA *et al.*, 2011), en el gen BMP15 (bone morphogenic protein 15) o FecX (cromosoma X) (MONTEAGUDO *et al.*, 2009), así como en el gen ALK-6 (cromosoma 6) que produce la proteína activin-like kinase (McNATTY *et al.*, 2005) (Tabla 2).

3.4 El gen BPM15

El gen de la proteína morfogénica del hueso (BPM15) se localiza en el cromosoma X a 10 centimorgans del centrómero. La secuenciación del gen ovino muestra ser similar a la del humano (~80 %), ratón (~76 %) y rata (~75 %), siendo de una longitud de 1179 pares de bases contenida en dos exones (LUNA *et al.*, 2014). Las variantes alélicas de este gen reciben el nombre FecX más una letra que identifica la raza en la cual ha sido reportado.

La proteína BMP15 actúa a través de una cascada de proteínas señalizadoras (vía Smad), que son responsables de un enorme rango de comportamientos fisiológicos a nivel celular, incluyendo el desarrollo y maduración de ovocitos. Los efectos biológicos de los BMPs son mediados por receptores celulares de superficie específicos tipo I y tipo II, estructuralmente similares; ambos poseen actividad serina/treonina cinasa intrínseca, cuya estimulación inicia cascadas de señalización intracelular que regulan eventos transcripcionales esenciales para la proliferación y la diferenciación celular. Existen dos receptores BMP tipo I, el BMPR-IA (o ALK-3) y BMPR-IB (o ALK-6), y de los receptores tipo II sólo se ha identificado el BMPR-II. Los receptores BMP tipo I y II se unen al ligando, pero la señal de transducción por el receptor BMP, requiere la formación de un complejo heterodimérico entre ambos receptores. Una vez formado el complejo BMPR ligando, el receptor tipo II, el cual tiene actividad cinasa constitutiva, fosforila y activa al receptor tipo I, el cual en su momento dispara los eventos de señalización BMP. En este proceso las moléculas Smad señalizadoras a nivel intracelular de BMP cumplen una función muy importante; en ratones Knockout las hembras doble condición Smad1 y Smad5 son infértiles y desarrollan tumores metastásicos en las células de la granulosa (LUNA *et al.*, 2014).

Lo dicho anteriormente, se puede resumir en que el gen desempeña un papel importante en la foliculogénesis, modulando la proliferación y diferenciación de las células de la granulosa y de la teca en respuesta a la estimulación por gonadotropinas produciendo un gran número de variaciones a nivel intrafolicular. Esta mutación induce una maduración precoz de los folículos ováricos al incrementar la sensibilidad a la FSH y no por un incremento de esta misma a nivel circulante; favoreciendo su selección y causando en las ovejas portadoras de esta mutación la ovulación y latinización de numerosos folículos maduros de mayor tamaño con una sensibilidad precoz a la LH conduciendo a una mayor tasa de ovulación (MARTINEZ *et al.*, 2008). Los cambios nucleotídicos en el gen BMP-15 producen un incremento de al menos 1.0 en la tasa ovulatoria y 0.6 en el tamaño de camada (DAVIS, 2005).

En el locus *FecX* se han reportado seis principales fenotipos (Tabla 2), entre ellos:

FecX^H: en la raza Hanna, consiste en una transición de una citosina (C) por una timina (T) en el nucleótido 67 (C67T) de la región codificante para el péptido maduro (aminoácido 291 del péptido no procesado), que introduce un codón de paro prematuro en la secuencia, lo cual muy probablemente resulta en una pérdida de la función de la BMP15 en los homocigotos para esta variante *FecX^H* (GALLOWAY *et al.*, 2000; MONTGOMERY *et al.*, 2001).

FecX^I: consiste en una transversión de una sola T por adenina (A) en la posición 92 (T92A) del gen, resultando en la sustitución de una valina por un ácido aspártico en una región altamente conservada de la proteína. Este cambio parece debilitar la habilidad de la BMP15 para formar dímeros, e interfiere con la acción biológica de la BMP15 en ovejas homocigotas para esta variante (GALLOWAY *et al.*, 2000; MONTGOMERY *et al.*, 2001).

FecX^B: es una transición de una G por T en el nucleótido 1100 (G1100T), sustituyendo una serina por una isoleucina en la posición 367 del aminoácido del péptido no procesado (aminoácido 99 de la proteína madura) (HANRAHAN *et al.*, 2004).

FecX^G: es una transición de una C por T en el nucleótido 718 (C718T), e introduce un codón de paro prematuro en el aminoácido 239 de la proteína no procesada, y presumiblemente resulta en pérdida completa de la función del BMP-15. La variante introduce un cambio de una arginina por una histidina, la cual sustituye un grupo polar cargado básico con otro, y ocurre en una posición antes del sitio de corte en el péptido maduro, e invariablemente afecta la actividad de la proteína madura (BARZEGARI *et al.*, 2010).

Tabla 2. Principales polimorfismos que afectan la prolificidad en ovino.

Fenotipo	Gen	Alelo	Efecto sobre la tasa de ovulación (genotipo)	Razas	Referencia
Inverdale		FecX ^I	+1 (+/FecX ^I)	Romney	GALLOWAY <i>et al.</i> , 2000
Hanna		FecX ^H	+1 (+/FecX ^H)	Romney	GALLOWAY <i>et al.</i> , 2000
Belclare		FecX ^B	+0,7 (+/FecX ^B)	Belclare	HANRAHAN <i>et al.</i> , 2004
Galway	BPM15	FecX ^G	+1,5 (+/FecX ^G)	Belclare, Cambridge, Moghani, Ghezel	HANRAHAN <i>et al.</i> , 2004; BARZEGARI <i>et al.</i> , 2010
Lacaune		FecX ^L	+1,5 (+/FecX ^L)	Lacaune	BODIN <i>et al.</i> , 2007
Roa		FecX ^R	+0,63 (+/FecX ^R)	Aragonesa	MARTÍNEZ <i>et al.</i> , 2009b; MONTEAGUDO <i>et al.</i> , 2009
High fertility		FecG ^H	+1,4 (+/FecG ^H)	Belclare, Cambridge, Garole	HANRAHAN <i>et al.</i> , 2004; POLLEY <i>et al.</i> , 2010
Embrapa	GDF9	FecG ^E	+0,12 (+/FecG ^E) +1(FecG ^E /FecG ^E)	Santa Inés	SILVA <i>et al.</i> , 2011
G1		FecG ^I	+0,17 (+/FecG ^I)	Baluchi	MORADBAND <i>et al.</i> , 2011
0	Lacaune	FecL ^L	+1,5 (+/FecL ^L) +3 (FecL/FecL ^L)	Lacaune	DROUILHET <i>et al.</i> , 2009
Booroola	ALK6	FecB ^B	+1,5 (+/FecB ^B) +3 (FecB ^B / FecB ^B)	Merino, Garole, Javanese, Hu, Han	MULSANT <i>et al.</i> , 2001; SOUZA <i>et al.</i> , 2001; WILSON <i>et al.</i> , 2001; DAVIS <i>et al.</i> , 2002; DAVIS <i>et al.</i> , 2006

FecX^L: se ha demostrado que segrega en la población de ovejas Lecaune incrementando la tasa ovulatoria cerca de dos óvulos. Este alelo consiste en un cambio de un aminoácido cisteína por una tirosina en la posición 53, responsable de una alteración dramática en el procesamiento del péptido BMP15 (BODIN *et al.*, 2007).

FecX^R: consiste en una delección de 17 pares de bases (c.525_541delTGGGTCCAGAAAAGCCC), que lleva a una alteración en la secuencia de aminoácidos, introduciendo un codón de paro prematuro, por lo que no se sintetiza el péptido maduro (MONTEAGUDO *et al.*, 2009).

3.4.1 Efectos positivos del alelo FecX^R del gen BMP15.

Según LAHOZ *et al.* (2014) la variante génica FecX^R da lugar a un incremento de la tasa de ovulación de +0,63 ovulaciones por oveja en animales heterocigotos, que ocasiona un incremento de la prolificidad de 0,35 corderos por parto (1,69 +/FecX^R vs. 1,34 +/+, P<0,0001). El incremento de la prolificidad se debe principalmente a un aumento del porcentaje de partos dobles, que pasa de un 31% a un 46,9 %, junto a un incremento moderado de los partos triples, que pasa del 1,3 % al 9,7 % (ALABART, 2016).

De otro lado, en las ovejas homocigotas (FecX^R /FecX^R) causa esterilidad, debido a fallas ováricas primarias (LAHOZ *et al.*, 2014). Por lo tanto, la inadecuada selección de hembras con este tipo de polimorfismos puede incrementar la probabilidad de homocigotos, resultando en corderas freemartins y por tanto estériles. Las ovejas homocigotas presentan ovarios pequeños y aplanados con folículos que no se desarrollan hasta la etapa de folículos primarios, lo que resulta en completa infertilidad (ALABART, 2016).

PARDOS *et al.* (2010) demostraron la repercusión económica de este polimorfismo, de manera que las explotaciones con más de un 5% de variantes génicas FecX^R como ovejas heterocigotas presentan mayores ingresos por oveja y año que las

explotaciones que sólo siguen el programa de selección poligénica clásica o que no hacen ningún tipo de selección (150,25, 125,66 y 106,40 € ; $P < 0,05$, respectivamente).

3.5 El gen GDF9

También conocido como FecG, y se encuentra en el cromosoma 5 de la oveja. El gen autosomal GDF9 tiene un patrón de herencia sobre dominante, su rol esencial es controlando el crecimiento folicular por su influencia en la función de la célula de la granulosa (LUNA *et al.*, 2014). Su expresión genética esta es exclusivamente en el ovario y oocito. Por lo que ratones son silenciamiento de este gen son infértiles (PAULINI y MELO, 2011).

El punto de cambio en la secuencia nucleotídica identificado en la oveja Belclare (FecG^H) resulta en un aminoácido no conservado en una región que se piensa interactúa con el receptor ligador de dominio tipo 1. En los homocigotos con el alelo GDF9 el desarrollo ovárico desde la etapa preantral hasta la de crecimiento folicular es diferente al del tipo silvestre. Los animales homocigotos para este alelo no ovulan y son infértiles, mientras que en los animales heterocigotos la tasa de ovulación promedio es de 2 comparados con las de tipo silvestre (Tabla 2), por lo que la ventaja en fertilidad, prolificidad y tasa ovulatoria es sólo para los heterocigotos (BARZEGARI *et al.*, 2010).

SILVA *et al.* (2011) en ovejas de raza Santa Inés con antecedentes de partos gemelares y trillizos, describen por primera vez el polimorfismo de nucleótido simple (SNP) del gen GDF9, denominado FecG^E (Embrapa), que no produce esterilidad en las hembras homocigotas. Este gen incrementa la tasa ovulatoria en homocigotos en 82% del número de cuerpos lúteos (CLs), promedio de 2,22 CLs por oveja, y 96,3% en partos múltiples comparada con las heterocigotas (+/FecG^E) y el tipo silvestre. Este alelo marca un efecto aditivo diferente al de sobredominancia de los alelos FecG^H y FecX descritos hasta hace poco, y con ovocitos fértiles en los genotipos FecG^E / FecG^E, marcando una nueva acción fisiológica para el gen GDF9.

HANRAHAN *et al.*, (2004) detectaron 8 diferentes SNPs en ovinos, uno de ellos fue denominado G1 o FecG¹. Esta mutación consiste en el cambio de una Guanina por una Adenina en la posición 260 de gen, que ocasiona el cambio de un Arginina por una Histidina en la posición 87 de la proteína. FecG¹ se ha asociado con un aumento en la tasa ovulatoria (CHU *et al.*, 2011) y también el tamaño de la camada (MORADBAND *et al.*, 2011; LIANDRIS *et al.*, 2012).

3.6 Marcadores moleculares

En la actualidad se han desarrollado varias técnicas moleculares para el estudio de los genes en los humanos, animales, plantas, bacterias y virus, impulsando el desarrollo de nuevos estudios como la secuenciación completa del genoma humano por medio de la genómica. Esta nueva disciplina y todas las áreas de la genética tales como la genética mendeliana, citogenética, genética molecular, genética de poblaciones y genética cuantitativa. Los caracteres rendimiento lechero, peso a una edad determinada, rendimiento de la canal, entre otros, son variables cuantitativas que relacionan el factor ambiente con varios genes pueden ser medidos por medio de herramientas moleculares y estadísticas (CAÑÓN, 2006).

Los genes se encuentran contenidos en el genoma y este a su vez tiene secuencias codificadoras (exones) y no codificantes (intrones), que sirven para la regulación de la expresión génica y a su vez, pueden ser utilizadas como marcadores (FAO, 2010), cuando se conoce el gen, los marcadores y la correlación de estos con una característica productiva se obtiene los QTL (*Quantitative Trait Loci*) (DEHNAVI *et al.*, 2012). De ahí que, con los QTL se pueden seleccionar animales que porten ciertas características de interés zootécnicas y realizar selección asistida por marcadores (SAM) (Dekkers, 2004).

El efecto de los QTL en varios casos es gracias a la asociación de los genes candidatos con el fenotipo de interés (CAÑÓN, 2006).

Las variaciones en el ADN son mutaciones resultantes de la sustitución de un solo nucleótido (polimorfismos de nucleótidos simples – SNP) que pueden conducir a ganancias o pérdidas de eficiencia metabólica o adquirir una nueva función. Los SNPs se encuentran en los intrones no afectan directamente el fenotipo del individuo, pero en algunas ocasiones las mutaciones pueden intervenir en la expresión génica produciendo cambios en su estructura proteica. También sirven para encontrar variaciones genéticas funcionales (FAO, 2010).

Los marcadores genéticos se utilizan para la genotipificación y detección de individuos portadores de genes (DEHNAVI *et al.*, 2012) y los marcadores moleculares son secuencias de ADN en los que se pueden identificar polimorfismos de un solo locus o múltiples con diferentes técnicas como Amplificación aleatoria de ADN polimórfico (RAPD), Polimorfismos por Ampliación de la Longitud del Fragmento (AFLPs), Polimorfismo Longitudinal de Fragmentos de Restricción (RFLPs) y Polimorfismo Conformacional de Cadena simple (SSCP).

La SSCP es utilizada en segmentos de nucleótidos entre 150 a 200 pares de bases, con una sensibilidad hasta del 90% y permite identificar el cambio de nucleótido en un segmento por medio de migración electroforética en geles de poliacrilamida. Esta técnica es económica y confiable, sin embargo, se requiere de tiempo para la estandarización del gel en cada fragmento a evaluar (ESTRADA *et al.*, 2005).

Otra técnica útil para identificar SNPs es la RFLP, donde se utilizan enzimas de restricción específicas para realizar cortes en el ADN en sitios específicos que son detectados. La PCR – RFLP, para identificar los patrones de corte de un gen se realiza la PCR normal y luego se adiciona una enzima de restricción específica realizando cortes específicos que luego serán observados en geles de poliacrilamida (FAO, 2010).

4. METODOLOGÍA

4.1 Objetivo específico 1: Caracterizar molecularmente los polimorfismos FecX^R del gen BMP15 y FecG^I del gen GDF9.

4.1.1 *Tamaño de muestra, sitios de muestreo, animales y colecta de sangre.*

Debido a que no existen datos sobre las frecuencias de estos alelos en los ovinos de pelo criollos (OPC) colombiano, el tamaño de muestra se estimó suponiendo que la frecuencia del menor alelo encontrado sea de 10%, así:

$$n = \frac{z^2 x (p x q)}{c^2}$$

Donde:

n = tamaño de muestra

z = nivel de significancia (95%)

c = certeza (5%)

p = probabilidad de encontrar el alelo A (0,9)

q = probabilidad de encontrar el alelo B (0,1)

$$n = \frac{(1,96)^2 x (0,9 x 0,1)}{0,05^2} = 138$$

Se colectaron 150 muestras de sangre de hembras OPC adultas, en nueve (9) fincas ubicadas en el Departamento Córdoba (Tabla 3).

Tabla 3. Fincas, códigos de finca, ubicación y tamaño de muestra por finca y total.

Finca	Código	Ubicación (Municipio/GPS)	N
El Abuelo	EAB	Tuchín/9°10'17.5"N 75°32'45.1"W	9
Campo Bello	CAB	San Andrés de Sotavento/9°09'59.2"N 75°32'37.8"W	10
La Diana	LDI	San Andrés de Sotavento/9°12'06.3"N 75°31'53.8"W	8
El Carmen Petaca	ECP	Tuchín/9°13'02.7"N 75°35'20.5"W	5
El Silencio	ESI	San Andrés de Sotavento/9°13'46.1"N 75°33'45.2"W	17
La Mano de Dios	LMD	San Andrés de Sotavento/9°13'29.1"N 75°30'31.5"W	14
Néstor Pérez	NPE	Los Vidales/9°13'51.6"N 75°31'48.0"W	10
Nueva Victoria	NVI	Tuchín/9°10'17.5"N 75°32'45.1"W	6
Villa Jordán	VJO	Montería/9°10'42.4"N 75°33'51.3"W	71
Total			150

Se eligieron animales con registros de partos que estuvieran clínicamente sanos, se colectó 3 ml la muestra de sangre mediante punción de la vena yugular, previa inmovilización y desinfección del área, usando el sistema Vacutainer® en tubos con anticoagulante (EDTA 7,2 mg). Las muestras de sangre fueron transportadas a 4°C hasta el laboratorio de Genética y Reproducción de la Universidad de Sucre y almacenadas a la misma temperatura hasta su procesamiento.

4.1.2 Extracción y cuantificación del ADN.

El ADN se extrajo usando el kit de QIAGEN QIAamp DNA Mini Kit 250” rápidamente:

1. Preparación de Buffers: Buffer AW1, se le agregó 125ml etanol al 96%. Buffer AW2, se le agregó 160ml etanol al 96%.
2. Se prepararon dos juegos de tubos eppendorf de 1,5 ml marcándolos en la tapa y en el cuerpo del tubo con la identificación de cada individuo (1-147)
3. En un tubo eppendorf se agregaron 20 µl de proteinasa K; luego se agregaron 200 µl de la muestra de sangre y 200 µl del buffer AL. Se mezclaron usando vórtex por 15 segundos. Se incubaron en un baño de María a 56°C durante 10 minutos.

4. Se agregó 200 µl de etanol 96% y se mezcló usando el vórtex por 15 segundos.
5. Se pasó cuidadosamente la mezcla obtenida en el paso anterior a la columna provista por el kit y se centrifugó a 8000 rpm durante 1 minuto, posterior a esto se pasó la columna al tubo nuevo de colecta.
6. Se agregaron 500 µl del buffer AW1 y se centrifugó a 8000 rpm durante 1 minuto
7. Se adicionaron 500 µl del buffer AW2 y se centrifugó a 13400 rpm durante 5 minutos, asegurando de que todo el buffer AW2 pase por la columna, se pasó la columna al tubo nuevo de colecta no proveído por el kit y se eliminó el tubo con el filtrado anterior.
8. Por último, se agregaron a la columna 200 µl del buffer AE y se incubó a temperatura ambiente durante 5 minutos. Luego se centrifugó a 8000 rpm durante 2 minutos.

El ADN extraído fue almacenado a -20°C hasta su cuantificación y dilución. El ADN fue cuantificado usando un espectrofotómetro NanoDrop 2000™ (Thermo Fisher Scientific). En promedio la concentración del ADN extraído fue de 56 ng/µl y una relación de absorbancia 260/280 de 1,82 lo que muestra una adecuada calidad del mismo. El ADN fue diluido a 10 ng/µl para las reacciones de PCR.

4.1.3 Amplificación por PCR de los fragmentos de interés.

En la Tabla 4, se presentan los cebadores utilizados para la amplificación de los fragmentos de interés.

Tabla 4. Cebadores utilizados para la amplificación de los polimorfismos de interés.

Gen	Locus	Cebadores	Tamaño de amplificado	Referencia
-----	-------	-----------	-----------------------	------------

BPM15	FecX ^R	F 5'-CTCTGAGACCAAACCGGGTA-3' R 5'-TTTGAGGAGCCTCTT CCTGA-3'	160 pb	MARTÍNEZ-ROYO <i>et al.</i> , 2008
GDF9	FecG ^I	F 5'-GAAGACTGGTATGGGGAAATG-3' R 5'-CCAATCTGCTCCTACACACCT-3'	463 pb	PAZ <i>et al.</i> , 2014

Las reacciones de PCR fueron llevadas a cabo en un volumen final de 12,5 µl, que contenían 20 ng de ADN, 250 nM de cada cebador y 1X del súper mix MangoMix™ (Bioline©). El perfil de amplificación de los dos locus estudiados incluyó una desnaturalización inicial de 95°C por 5 minutos, seguidos de 30 ciclos de desnaturalización a 95°C por 30 segundos, hibridación a 60°C por 30 segundos, extensión a 72°C por 30 segundos, y una extensión final de 72°C por 5 minutos. Las reacciones fueron realizadas en un termociclador MasterCycler Nexus Gradient de Eppendorf®.

4.1.4 Genotipado

El polimorfismo FecX^R, consiste en una delección de 17 nucleótidos (525_541 del TGGGTCCAGAAAAGCCC), con la consecuente delección de seis aminoácidos en la proteína (MARTINEZ *et al.*, 2008). Por tanto el genotipado se realizó directamente desde la electroforesis según Martínez-Royo *et al.*, (2008) así: genotipo silvestre (sin delección) FecX⁺/FecX⁺ = 160bp/160pb; genotipo mutado (con delección en ambos cromosomas) FecX^R/FecX^R = 143bp/143pb y genotipo heterocigoto FecX⁺/FecX^R = 160bp/143pb (Figura 1).

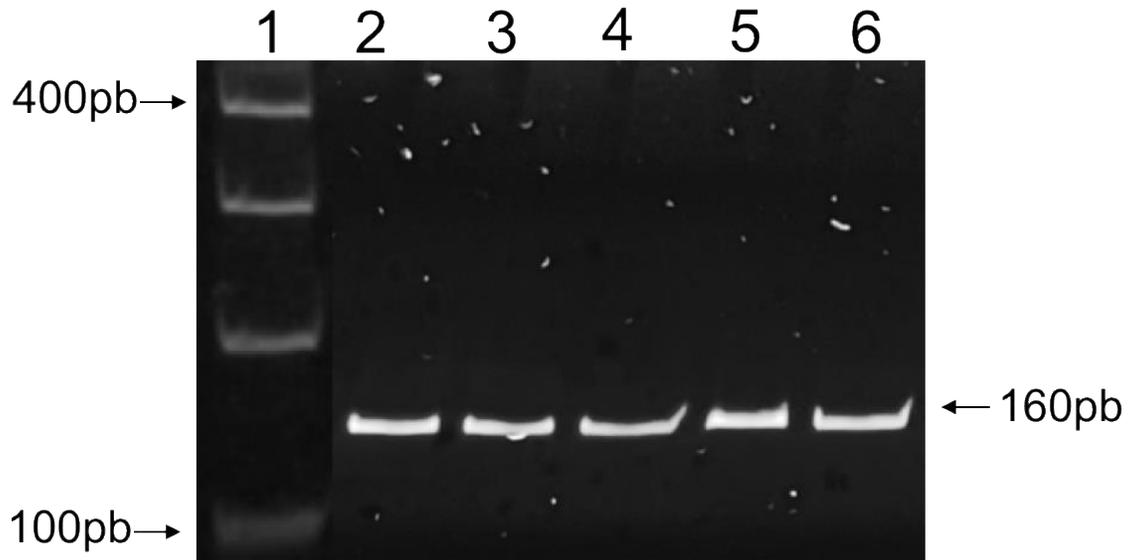


Figura 1. Genotipos *locus FecX^R*. Carril 1: marcador de 100 pares de bases; Carriles 2 al 6 genotipo homocigoto *FecX⁺/FecX⁺*.

El *locus FecG^I* se genotipó mediante PCR-RFLP con la enzima de restricción HhaI. El mix de corte se realizó en un volumen final de 12,5 µl que contenían 3 µl de producto de PCR, 1X del Buffer Tango y 10U de la enzima HhaI (5`GCG/C3`). El mix de digestión se incubó por 3 horas a 37°C y 20 minutos a 80°C para inactivar la enzima.

4.1.5 Electroforesis

El producto de PCR del *locus FecX^R* y el producto de restricción del *locus FecG^I*, fueron mezclados en proporción 1:4 con azul de carga (azul de bromofenol 0,05%; glicerol 60% y 10% GelRed™). Ambos polimorfismos fueron genotipados en geles de poliacrilamida 37:1 (acrilamida:bisacrilamida) al 12%, en geles de 170mm x 86mm x 1,2mm. Corridos a 160 voltios durante 45 minutos. Los geles fueron observados y foto documentados bajo luz ultra violeta en un transiluminador.

Los genotipos para el *locus* *FecG^I* se determinaron así: $FecG^+/FecG^+ = 254pb/156pb/52pb$; $FecG^I/FecG^I = 410pb/52pb$ y $FecG^+/FecG^I = 410/254pb/156pb/52pb$ (Figura 2) (Paz *et al.*, 2014).

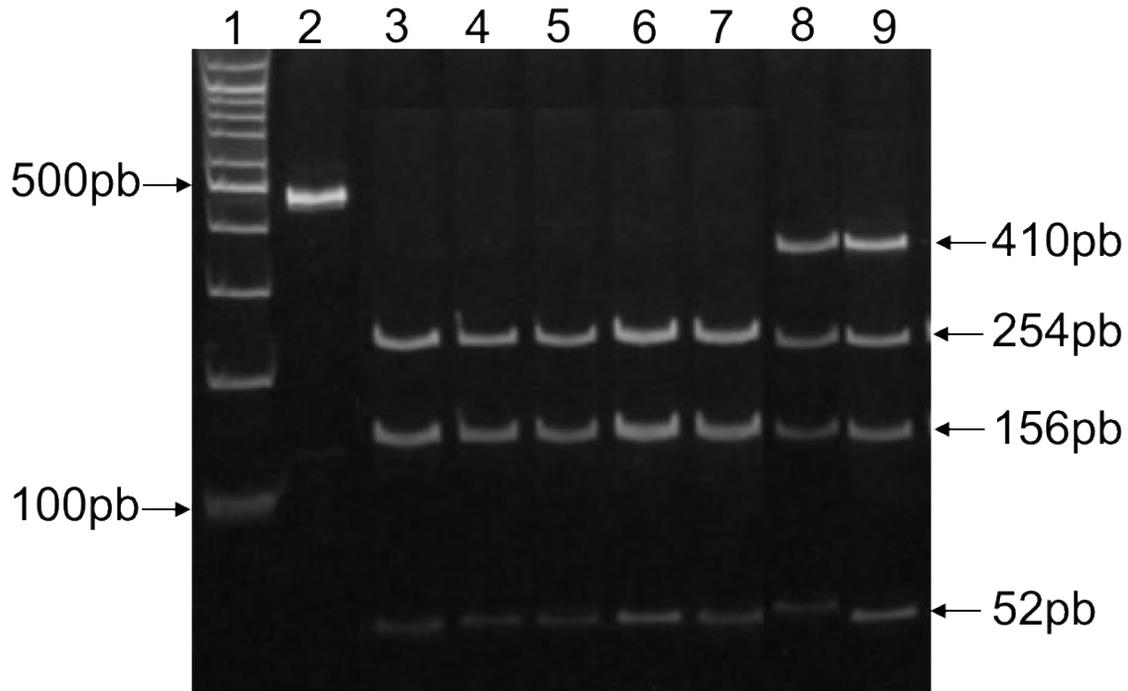


Figura 2. Genotipos locus *FecG^I*. Carril 1: marcador de 100 pares de bases; Carril 2: producto de PCR sin digestión enzimática; Carriles 3 al 7: genotipo homocigoto $FecG^+/FecG^+$; Carriles 8 y 9: Genotipo heterocigoto $FecG^+/FecG^I$.

4.1.6 Análisis de datos moleculares

A los dos *loci* se les calcularon las frecuencias genotípicas, las frecuencias alélicas, la heterocigocidad observada (H_o) y esperada (H_e), los índices poblaciones F , las desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW), un análisis de varianza molecular (AMOVA) y la distancia genética entre fincas usando el programa GENALEX versión 6.5 (PEAKALL AND SMOUSE, 2012). Usando el programa MEGA7 se graficaron las distancias genéticas encontradas, utilizando el método de agrupación UPGMA (KUMAR *et al.*, 2016).

4.2 Objetivo específico 2: Asociar los polimorfismos FecX^R y FecG^I de los genes BMP15 y GDF9 respectivamente, con la prolificidad natural en ovinos de pelo criollos colombianos y determinar algunos efectos no genéticos que afectan la prolificidad.

4.2.1 Tamaño de muestra, sitio de muestreo y colecta de datos.

Para este análisis solo se tuvieron en cuenta los animales provenientes de la Aprisco Villa Jordán Ubicado en Montería (9°10'42.4"N 75°33'51.3"W). Se eligieron animales con registros de partos que estuvieran clínicamente sanos y que además hubieran sido genotipados para FecX^R y FecG^I de los genes BMP15 y GDF9 respectivamente. 59 ovejas adultas cumplieron con todos los requisitos, en las que se evaluaron un total de 143 partos.

4.2.2 Análisis de los datos

Solo se consideró el polimorfismo encontrado en el *locus* FecG^I pues el *locus* FecX^R fue monomórfico. Se realizó un análisis de estadística descriptiva para las variables prolificidad (corderos/hembra/parto) y número del parto de la madre que junto con las variables mes de concepción, época de concepción, año de concepción y padre, se consideraron como variables de tipo no genético.

Se realizó un análisis de varianza de acuerdo a un modelo lineal generalizado (GLM) de efectos fijos, donde se determinó que factores genéticos (polimorfismo en el *locus* FecG^I) y no genéticos afectaron la prolificidad, usando el software R® (R Development Core Team, 2008) de acuerdo al siguiente modelo:

$$Y_{ijklmn} = \mu + \beta_i + \delta_j + \gamma_k + \alpha_l + \phi_m + \phi_n + \varepsilon_{ijklmn}$$

Donde:

Y_{ijklmn} = prolificidad observada

μ = Efecto de la media poblacional

β_i = Efecto del genotipo FecG^l i = FecG⁺/FecG⁺ y FecG⁺/FecG^l

δ_j = Efecto del parto de la madre j = 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7

γ_k = Efecto del padre k = 1, 2, 3, 4, 5, 6, y 7

α_l = Efecto del año de concepción l = 2011, 2012, 2013, 2014, 2015 y 2016

φ_m = Efecto del mes de concepción m = enero, febrero, marzo, abril, mayo, junio, julio, agosto, septiembre, octubre, noviembre y diciembre

ϕ_n = Efecto de la época de concepción n = seca (diciembre a abril) y lluvia (mayo a noviembre)

ε_{ijklmn} = Efecto del error aleatorio

Se realizó un análisis de comparación de medias de Duncan ($\alpha = 0,05$) para las variables consideradas significativas ($P \leq 0,05$), también se realizó un análisis de correlación de Pearson con su respectivo test de significancia usando el software R® (R Development Core Team, 2008)

5. RESULTADOS

5.1 Caracterización molecular de los polimorfismos $FecX^R$ del gen BMP15 y $FecG^I$ del gen GDF9.

En la Tabla 5 se presentan las frecuencias alélicas y genotípicas del *locus* $FecX^R$ del gen BMP15 y del *locus* $FecG^I$ del gen GDF9 en cada una de las fincas en estudio y para la población de OPC. En todas las fincas y por tanto en toda la población se encontró que el *locus* $FecX^R$ fue monomórfica en el OPC analizado, encontrándose solo el alelo $FecX^+$ y el genotipo $FecX^+/FecX^+$.

El *locus* $FecG^I$ si fue polimórfico. El alelo silvestre $FecG^+$ presentó una frecuencia de 0,89 y el alelo mutado $FecG^I$ de 0,11 en toda la población. En cuanto a los genotipos es necesario evidenciar que no se encontró en genotipo $FecG^I/FecG^I$, mientras que las frecuencias para los genotipos $FecG^+/FecG^+$ y $FecG^+/FecG^I$ fueron de 78 y 22%, respectivamente.

El alelo $FecG^I$ no se encontró en la finca ECP y presentó frecuencias menores al 10% en las fincas EAB, ESI y NPE. De otro lado, en la finca LDI se encontró la mayor frecuencia de alelo mutado $FecG^I$ (0,25). El genotipo homocigoto $FecG^+/FecG^+$ se encontró con frecuencia mayor al 90% en las fincas CAB, ECP, ESI y NPE. Las menores frecuencias de este genotipo se encontraron en las fincas EAB, NVI (67% en ambas) y LMD (29%).

En la Tabla 6 se muestran los valores de heterocigocidad observada (H_o), heterocigocidad esperada (H_e) y el índice de fijación (F) solo para el *locus* $FecG^I$ y para la sumatoria de los dos *loci* estudiados ($FecX^R + FecG^I$), en razón a que el *locus* $FecX^R$ fue monomórfico.

Tabla 5. Frecuencias alélicas y genotípicas de los *loci* FecX^R y FecG^I en cada una de las fincas estudiadas.

Finca	N	Frecuencias Alélicas				Frecuencias Genotípicas			
		FecX ^R		FecG ^I		FecX ^R		FecG ^I	
		FecX ⁺	FecX ^R	FecG ⁺	FecG ^I	FecX ⁺ /FecX ⁺	FecG ⁺ /FecG ⁺	FecG ⁺ /FecG ^I	
EAB	9	1,00	0,00	0,94	0,06	1,00	0,67	0,33	
CAB	10	1,00	0,00	0,85	0,15	1,00	0,90	0,10	
LDI	8	1,00	0,00	0,75	0,25	1,00	0,75	0,25	
ECP	5	1,00	0,00	1,00	0,00	1,00	1,00	0,00	
ESI	17	1,00	0,00	0,94	0,06	1,00	0,94	0,06	
LMD	14	1,00	0,00	0,82	0,18	1,00	0,29	0,71	
NPE	10	1,00	0,00	0,95	0,05	1,00	0,90	0,10	
NVI	6	1,00	0,00	0,83	0,17	1,00	0,67	0,33	
VJO	71	1,00	0,00	0,89	0,11	1,00	0,76	0,24	
Toda la población	150	1,00	0,00	0,89	0,11	1,00	0,78	0,22	

Para toda la población estudiada de OPC se encontró en el *locus* FecG^I un valor de Ho de 0,226±0,15 y de 0,189±0,12 de He, que tuvo como consecuencia un valor de F de -0,194 evidenciando un exceso de heterocigotos, y para ambos *loci* se tuvo una Ho y He de 0,113±0,07 y 0,094±0,06 respectivamente, y un F de -0,194 nuevamente evidenciando exceso de heterocigotos.

Tabla 6. Valores de Ho, He y F, para el locus FecG^I y sumatoria de los dos loci FecX^R + FecG^I.

Finca	FecG ^I			FecX ^R + FecG ^I		
	Ho	He	F	Ho	He	F
EAB	0,111	0,105	-0,059	0,056	0,052	-0,059
CAB	0,300	0,255	-0,176	0,150	0,128	-0,176
LDI	0,500	0,375	-0,333	0,250	0,188	-0,333
ECP	0,000	0,000	----	0,000	0,000	----
ESI	0,118	0,111	-0,063	0,059	0,055	-0,063
LMD	0,357	0,293	-0,217	0,179	0,147	-0,217
NPE	0,100	0,095	-0,053	0,050	0,048	-0,053
NVI	0,333	0,278	-0,200	0,167	0,139	-0,200
VJO	0,211	0,189	-0,118	0,106	0,094	-0,118
Toda la población	0,226±0,15	0,189±0,12	-0,194	0,113±0,07	0,094±0,06	-0,194

En la finca ECP no se encontraron individuos heterocigotos (Tabla 5) por lo que el valor de Ho fue cero, indicando también, que esta finca tiene la menor diversidad genética. La diversidad genética más alta se encontró en la finca LDI, LMD y NVI cuando se analiza solo el *locus* FecG^I o cuando se consideran ambos *loci*.

En todas las fincas se encontraron valores negativos de F, que fueron mayores en las fincas finca LDI, LMD y NVI y con bajos valores en las fincas EAB, NPE y VJO.

La prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW) no se realizó en el *locus* FecX^R en razón de encontrarse monomórfico. Para *locus* FecG^I en todas las fincas y en el OPC no presentó desviaciones significativas (P>0,05).

El análisis de varianza molecular (Tabla 7) dividió la variación total en tres fuentes, entre fincas, entre de individuos y dentro de individuos, esta última fue la

responsable del 99% de la variación encontrada. El valor de F_{ST} calculado a partir de este análisis de varianza fue de 0,008 ($P>0,05$), los valores de F_{IS} y F_{IT} fueron negativos sin diferencias estadísticas significativas.

Tabla 7. Análisis de varianza molecular y estadísticos F de Wrigth.

Fuente de Variación	GL	Cuadrado Medio	% de Variación	Estadísticos F
Entre fincas	8	0,107	1%	$F_{ST} = 0,008^{ns}$
Entre individuos	141	0,085	0%	$F_{IS} = -0,127^{ns}$
Dentro de individuos	150	0,110	99%	$F_{IT} = -0,119^{ns}$
Total	299		100%	

ns = no significativo ($P>0,05$)

La Tabla 8 muestra los valores de distancias genéticas encontradas entre las fincas estudiadas. La menor distancia se encontró entre las fincas ECP y NPE. De otro lado, ningún valor fue superior a 0,5 que fue el encontrado entre la finca LDI y las demás. En la Figura 3, se presenta un dendrograma de distancias genéticas que se muestran en la Tabla 8 utilizando el método UPGMA para graficarlo.

Tabla 8. Distancias genéticas por pares de fincas.

Finca	EAB	CAB	LDI	ECP	ESI	LMD	NPE	NVI	VJO
EAB	0,000								
CAB	0,344	0,000							
LDI	0,500	0,500	0,000						
ECP	0,111	0,300	0,500	0,000					
ESI	0,203	0,347	0,500	0,118	0,000				
LMD	0,389	0,443	0,500	0,357	0,391	0,000			
NPE	0,189	0,340	0,500	0,100	0,194	0,386	0,000		
NVI	0,370	0,433	0,500	0,333	0,373	0,452	0,367	0,000	
VJO	0,275	0,385	0,500	0,211	0,279	0,418	0,269	0,404	0,000

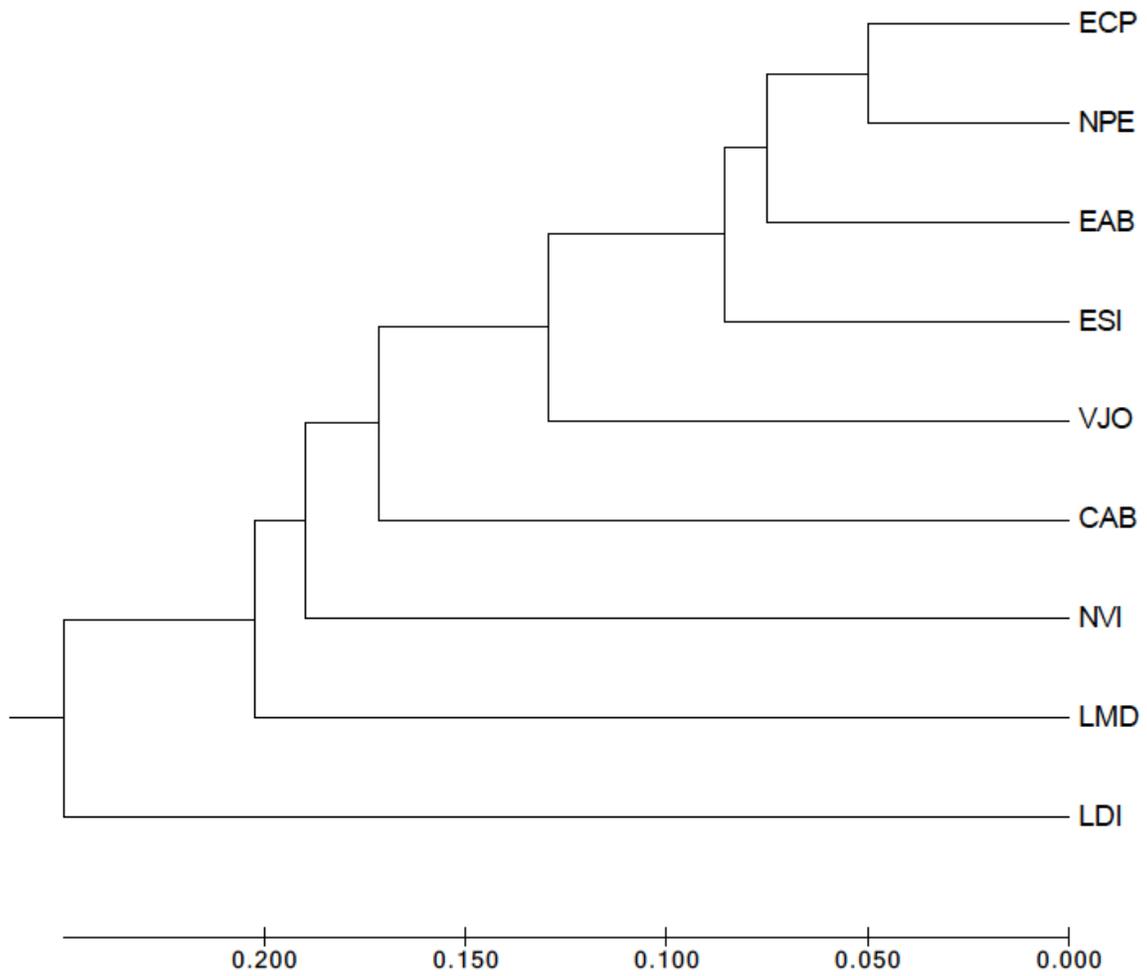


Figura 3. Dendrograma de distancias genéticas entre las fincas estudiadas usando el algoritmo UPGMA.

5.2 Asociación de los polimorfismos FecX^R y FecG^I de los genes BMP15 y GDF9 respectivamente, con la prolificidad natural en ovinos de pelo criollos colombiano y determinación de algunos efectos no genéticos que afectan la prolificidad.

Se evaluaron 59 ovejas adultas para un total de 143 partos. La estadística descriptiva de las variables estudiadas se puede ver en la Tabla 9.

La prolificidad promedio encontrada fue de $1,30 \pm 0,30$, con un valor máximo de 2 crías/hembra/parto y fue la variable con menor valor CV. En promedio cada hembra tuvo $2,43 \pm 1,63$ partos. El 45% de las hembras estudiadas solo tuvo un parto, el 22% tuvo dos partos, el 8% de las hembras tuvo tres, con cuatro y cinco partos estuvieron el 5% de las hembras, de seis partos se encontraron el 10% y solo el 3% de los animales tuvo siete partos. El coeficiente de variación para esta variable fue alto.

Tabla 9. Estadística descriptiva de las variables evaluadas.

Variable	Promedio	Desviación estándar	Mínimo	Máximo	CV
Prolificidad	1,3	0,3	1	2	25%
Partos	2,4	1,6	1	7	67%
Padre	20,4	17,1	2	47	84%
Año de concepción	24,2	17,2	5	49	71%
Mes de concepción	12,1	7,6	5	25	63%
Época de concepción	72,5	29,0	52	93	40%

CV = coeficiente de variación

Se determinó que, en la población analizada, las hembras habían sido servidas por siete machos, los cuales sirvieron en promedio $20,4 \pm 17,1$ hembras cada uno. El padre que más hembras sirvió fue 47. El CV de la variable fue muy alto. Los datos colectados se agruparon en seis años de concepción (2011 a 2016), en el año 2011 se encontró el menor número de servicios, mientras que, en el 2015 se registran 34% de las montas. En promedio cada en cada año se sirvieron $24,2 \pm 17,2$ hembras.

En promedio, en cada mes se realizaron $12,1 \pm 7,6$ concepciones, se nota una clara estacionalidad en los servicios, así: Diciembre-Enero (22% de servicios), Abril-Mayo (18% de servicios) y Agosto-Septiembre (34% de servicios), los demás seis meses agrupan el 26% de las concepciones. Para la época de concepción, se consideró en la época seca los meses comprendidos entre Diciembre y Abril, mientras que, la época de lluvia estuvo comprendida entre los meses de Mayo a Noviembre. Se encontró que el mayor porcentaje de concepciones se realizaron en época de lluvia (64%) y el menor en época seca (36%). El CV de época fue alto.

El análisis de varianza mostró un valor de $P = 0,282$ para el modelo utilizado (Tabla 10). Con un valor de R^2 de 0,24 y CV de 24,8%.

Tabla 10. Análisis de varianza para prolificidad en el aprisco Villa Jordán.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Valor de F	Valor P
Modelo	29	0,118	1,21	0,233
Error	113	0,097		
Total corregido	142			

La división de los factores que afectan el valor de prolificidad según el GLM se encuentra en la Tabla 11, donde se evidencia que el factor Padre es el único con efecto significativo sobre el valor de prolificidad.

Tabla 11. Efecto de los factores genéticos y no genéticos sobre la prolificidad en el aprisco estudiado.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Valor de F	Valor P
Genotipo	1	0,166	1,71	0,194
Número de parto	6	0,072	0,75	0,614
Padre	6	0,307	3,15	0,006
Año de concepción	5	0,119	1,22	0,304
Mes de concepción	10	0,035	0,36	0,960
Época de concepción	1	0,103	1,06	0,194

No se encontró un efecto significativo del genotipo en el *locus* FecG¹ sobre la prolificidad ($P = 0,194$). Sin embargo, la prolificidad fue mayor en el genotipo

heterocigoto que en el homocigoto, aunque las frecuencias genotípicas fueron contrarias (Tabla 12).

Tabla 12. Prolificidad promedio encontrada de acuerdo al genotipo en el *locus* FecG^l.

Genotipo	N	Prolificidad	Frecuencia genotípica
FecG ⁺ /FecG ^l	14	1,333 ± 0,36	0,24
FecG ⁺ /FecG ⁺	45	1,239 ± 0,30	0,76

El número de parto de la hembra no afectó (P = 0,614) la prolificidad en los ovinos (Tabla 13), sin embargo, se nota una mayor prolificidad a mayor número de parto.

Tabla 13. Prolificidad promedio encontrada de acuerdo al número de parto de la hembra.

Numero de parto	N	Prolificidad
1	58	1,259 ± 0,36
2	32	1,215 ± 0,26
3	19	1,257 ± 0,28
4	13	1,279 ± 0,28
5	11	1,287 ± 0,30
6	8	1,245 ± 0,29
7	2	1,400 ± 0,56

De otro lado, el padre si afecto significativamente (P = 0,006) la prolificidad (Tabla 14). El padre identificado con el número cuatro presentó el mayor valor de prolificidad y el padre tres la menor.

Tabla 14. Prolificidad promedio encontrada de acuerdo al padre.

Padre	N	Prolificidad*
1	5	1,496 ± 0,21 ^{ab}
2	47	1,182 ± 0,31 ^c
3	18	1,125 ± 0,29 ^{bc}
4	5	1,620 ± 0,41 ^a
5	42	1,226 ± 0,31 ^{bc}
6	15	1,326 ± 0,29 ^{bc}
7	11	1,310 ± 0,28 ^{bc}

*Valor con diferente letra indica diferencias estadísticamente significativas (P≤0,05)

Las tres variables relacionadas con la fecha de concepción de las crías no tuvieron relación significativa, en las Tablas 15, 16 y 17 se detallan los valores de prolificidad según año, mes y época de concepción, respectivamente.

Tabla 15. Prolificidad promedio encontrada de acuerdo al año de concepción.

Año de concepción	N	Prolificidad
2011	5	1,566 ± 0,17
2012	12	1,234 ± 0,28
2013	11	1,255 ± 0,29
2014	29	1,266 ± 0,30
2015	49	1,223 ± 0,33
2016	37	1,251 ± 0,33

Tabla 16. Prolificidad promedio encontrada de acuerdo al mes de concepción.

Mes de concepción	N	Prolificidad
Enero	18	1,196 ± 0,30
Febrero	7	1,390 ± 0,41
Marzo	4	1,200 ± 0,44
Abril	8	1,155 ± 0,16
Mayo	18	1,253 ± 0,27
Junio	5	1,400 ± 0,37
Julio	7	1,214 ± 0,39
Agosto	24	1,296 ± 0,35
Septiembre	25	1,313 ± 0,34
Octubre	7	1,292 ± 0,30
Noviembre	6	1,221 ± 0,25
Diciembre	14	1,123 ± 0,20

Tabla 17. Prolificidad promedio encontrada de acuerdo a la época de concepción.

Época de concepción	N	Prolificidad
Seca	51	1,196 ± 0,29
Lluvia	92	1,286 ± 0,32

En la Tabla 18 aparecen los valores de correlación de Pearson y los valores de significancia de los mismos. Seis de las 21 correlaciones posibles fueron significativas ($P \leq 0,01$). La prolificidad no se correlacionó significativamente con ninguna otra variable, mientras que, la época y el mes de concepción presentaron

la correlación más alta y de signo positivo. De otro lado, la correlación negativa más alta se encontró entre el año de concepción y el padre usado para el servicio.

Tabla 18. Correlaciones de Pearson y valores de probabilidad para todas las variables estudiadas.

	Prolificidad	Genotipo	Parto	Padre	Año	Mes	Época
Prolificidad	-----	0,1106 [¶]	0,0361	0,0706	-0,9058	-0,0054	0,1364
P-Valor		0,1851 [°]	0,6664	0,3982	0,2517	0,948	0,1017
Genotipo		-----	-0,1988	-0,0955	0,0696	0,067	-0,0152
P-Valor			0,0165	0,253	0,4055	0,4228	0,8559
Parto			-----	-0,0208	0,3652	-0,2313	0,0848
P-Valor				0,8038	<0,0001	0,0051	0,3105
Padre				-----	-0,3601	-0,1394	-0,0212
P-Valor					<0,0001	0,0943	0,7994
Año					-----	-0,2621	-0,0761
P-Valor						0,0014	0,3624
Mes						-----	0,4372
P-Valor							<0,0001
Época							-----
P-Valor							

[¶] Valor de r; [°] Valor de probabilidad. Valores en negrilla son significativos.

6. DISCUSIÓN

6.1 Caracterización molecular de los polimorfismos FecX^R del gen BMP15 y FecG^I del gen GDF9.

Alelo FecX^R o también llamado alelo ROA, fue descrito por primera vez en la raza ovina aragonesa “Rasa Oviaragón”, la cual es una raza autóctona que produce un cordero de calidad llamado Ternasco de Aragón. La variante FecX^R consiste en una deleción de 17 pares de bases (c.525_541delTGGGTCCAGAAAAGCCC), que lleva a una alteración en la secuencia de aminoácidos, introduciendo un codón de paro prematuro, por lo que no se sintetiza el péptido maduro (MONTEAGUDO *et al.*, 2009). Según LAHOZ *et al.*, (2014) la variante génica FecX^R da lugar a un incremento de la tasa de ovulación de +0,63 ovulaciones por oveja en animales heterocigotos, que ocasiona un incremento de la prolificidad de 0,35 corderos por parto (1,69 FecX⁺/FecX^R vs. 1,34 FecX⁺/ FecX⁺, P<0,0001).

En la presente investigación realizada en OPC no fue posible identificar el alelo mutado, la población mostró ser toda monomórfica para FecX⁺. Son pocas las investigaciones realizadas sobre el polimorfismo FecX^R del gen BMP15 en razas alrededor del mundo, debido en parte a que esta fue recientemente encontrando y a que la mutación al parecer esta fija en esta raza. Esto último podría explicar en parte porque no se encontró la mutación FecX^R en el OPC. Es posible que dentro de las razas formadoras de la OPC no se encontrara la raza Aragonesa o que debido al nulo manejo de esquemas de reproducción de los ejemplares traídos durante la conquista de América, la mutación en mención se haya perdido.

En la Tabla 19, se pueden ver diferentes estudios de análisis de frecuencias alélicas para la variante FecG^I en razas alrededor del mundo.

Tabla 19. Frecuencias alélicas y genotípicas del locus FecGI en diferentes razas alrededor del mundo.

Raza	N	Frecuencia alélica		Frecuencia genotípica			Referencia
		FecG ⁺	FecG ^l	FecG ⁺ /FecG ⁺	FecG ⁺ /FecG ^l	FecG ^l /FecG ^l	
Ovinos de pelo criollo	150	0,89	0,11	0,78	0,22	----	Presente Investigación
Corriedale	92	0,73	0,27	0,86	0,14	----	VERA <i>et al.</i> , 2014
Sangsari	150	0,80	0,20	0,71	0,37	0,01	KASIRIYAN <i>et al.</i> , 2010
Criollo Araucano	100	0,78	0,22	0,56	0,44	----	PAZ <i>et al.</i> , 2014
Afshari	19	0,76	0,24	0,52	0,48	----	
Baluchi	18	0,78	0,22	0,61	0,33	0,06	JAVANMARD <i>et al.</i> , 2011
Makui	30	0,77	0,33	0,57	0,43	----	
Merhaban	30	0,82	0,18	0,64	0,36	----	
Kordi	42	0,91	0,09	0,81	0,19	----	
Arabic	44	0,92	0,08	0,84	0,16	----	GHADERI <i>et al.</i> , 2010
Iranian Baluchi	152	0,82	0,18	0,72	0,20	0,10	MORADBAND <i>et al.</i> , 2011
Chios	92	0,76	0,24	0,61	0,30	0,10	
Karagouniki	96	0,97	0,03	0,95	0,05	----	LIANDRIS <i>et al.</i> , 2012.

En este estudio se encontró una frecuencia del alelo silvestre FecG⁺ de 0,89 y el alelo mutado FecG^l de 0,11. En ninguno de los reportes encontrados la frecuencia del alelo mutado fue mayor a la del alelo silvestre. El único reporte de análisis de polimorfismo en genes asociados a prolificidad en razas criollas lo presenta PAZ *et al.*, (2014) en la raza ovino criollo Araucano de Chile, en su estudio la frecuencia del alelo y el genotipo mutado duplican al encontrado en el criollo colombiano (Tabla 19).

La frecuencia del alelo mutado y de el genotipo heterocigoto en el OPC fue mayor a la frecuencia reportada en las razas Karagouniki, Arabic y Kordi por LIANDRIS *et al.*, (2012) y GHADERI *et al.*, (2010) respectivamente. En estas mismas razas, al igual que la presente investigación no se encontró el genotipo FecG^l/FecG^l. En otros estudios realizados por JAVANMARD *et al.*, (2011) en cuatro razas de ovinos Afshari, Baluchi, Makui y Merhaban reportaron frecuencias alélicas para FecG^l mayores y menores para FecG⁺. También presentaron frecuencias genotípicas más altas en el genotipo FecG⁺/FecG⁺ que para FecG⁺/FecG^l, y encontró en baja frecuencia el genotipo FecG^l/FecG^l en la raza Baluchi. Otros reportes en los que se encontró el genotipo homocigoto FecG^l/FecG^l incluye las razas Sangsari, Baluchi Iranian Baluchi y Chios (Tabla 19). Uno de los datos más altos sobre la presencia del polimorfismo FecG fue reportado por VERA *et al.*, (2014) en la raza Corriedale, resultados que permiten destacar la alta frecuencia del genotipo heterocigoto respecto al OPC; por el contrario, en la raza Karagouniki se describe la presencia más baja de este genotipo (LIANDRIS *et al.*, 2012).

Cabe destacar de esta investigación que no fue posible encontrar individuos con genotipo FecG^l/FecG^l, al igual que otros ocho reportes en diferentes razas que se presentan en la Tabla 19. Al respecto, diferentes investigaciones presentan datos contrarios, sobre el posible efecto de este genotipo sobre la prolificidad. Algunos autores señalan que los animales con genotipo FecG^l/FecG^l resultan ser estériles y que serían eliminados rápidamente de los rebaños (PAZ *et al.*, 2014), en esta investigación solo se tomaron muestras de ADN de individuos adultos con historial

de partos así que, por efectos de deriva genética es posible que este genotipo no se haya tomado. LIANDRIS *et al*, (2012) por ejemplo reportaron un aumento de la prolificidad en individuos de raza Chios que tienen el genotipo FecG^l/FecG^l (2,25 corderos/hembra/parto) respecto a los otros genotipos (FecG⁺/FecG^l y FecG⁺/FecG⁺ con prolificidad promedio de 1,45 y 1,59, respectivamente). Mientras que, MORADBAND *et al*, (2011) en la raza india Baluchi, reportaron que el genotipo más prolífico es el heterocigoto FecG⁺/FecG^l (1,38 ± 0.05) respecto a los otros dos genotipos FecG⁺/FecG⁺ (1,23 ± 0.03) y FecG^l/FecG^l (1,03 ± 0,05). Otra posible explicación a la ausencia del genotipo mutado, es que las razas ancestrales del OPC no tuvieran esta mutación y por tanto el criollo colombiano no la haya heredado.

Otras investigaciones sobre diferentes polimorfismos en genes con efecto sobre la prolificidad han sido descritas por SUDHAKAR *et al*, (2013) en el que identificó la presencia de la mutación Boorla (FecB) en ovejas de raza Nilagiri con una frecuencia genotípica para FecB⁺/FecB⁺, FecB⁺/FecB^B y FecB^B/FecB^B de 0,73, 0,26 y 0,01, respectivamente y una frecuencia alélica de FecB⁺ y FecB^B de 0,86 y 0,14, respectivamente. Por su parte MORADBAND *et al*, (2011), en un estudio realizado en 152 ovejas de raza Baluchi, investigaron la presencia de tres genes GDF9, BMP15 y BMP15-1B de los polimorfismos FecG^l, FecX^G y FecB^B, respectivamente, encontrando que la mutación FecX^G y FecB^B fueron monomórficas, solo encontrado el alelo silvestre para cada uno de los genes.

KIM *et al*, (2002) describieron que la heterosigocidad esperada (He) es considerada como el mejor estimador de variabilidad genética. En el presente estudio se obtuvo una Ho y He promedio de 0,226 y 0,189, respectivamente para el *locus* FecG^l. En la Tabla 20 se presenta la estimación del valor de He y F para diferentes razas. En general, la diversidad de genética en este *locus* es más baja que en nueve de los reportes presentados en la Tabla 20. Sin embargo, el exceso de heterocigotos solo se evidenció en seis razas, de las cuales tres incluyendo al criollo Araunano superan

en este índice al OPC. De otro lado, en seis reportes se evidencia un déficit de animales heterocigos, con el mayor valor de F en la raza Corriedale (Tabla 20).

Tabla 20. Valores de diversidad (He) y F estimadas a partir de las frecuencias alélicas reportadas en diversas razas.

Raza	Ho	He	F	Referencia
Ovinos de pelo criollo	0,226	0,189	-0,194	Presente Investigación
Corriedale	0,140	0,394	0,645	VERA et al.,2014
Sangsari	0,370	0,320	-0,156	KASIRIYAN et al.,2010
Criollo Araucano	0,440	0,343	-0,282	PAZ <i>et al.</i> ,2014
Afshari	0,480	0,365	-0,316	JAVANMARD <i>et al.</i> , 2011
Baluchi	0,330	0,343	0,038	
Makui	0,400	0,508	0,213	
Merhaban	0,360	0,295	-0,220	
Kordi	0,190	0,164	-0,160	GHADERI <i>et al.</i> , 2010
Arabic	0,160	0,147	-0,087	
Iranian Baluch	0,200	0,295	0,322	MORADBAND <i>et al.</i> , 2011
Chios	0,300	0,365	0,178	LIANDRIS <i>et al.</i> , 2012.
Karagouniki	0,050	0,058	0,141	

Utilizando marcadores moleculares tipo microsatelites, en 13 ovinas presentes en Colombia (Blackbelly, Camuro, Corriedale, Criollo de Lana, Dorper, Dorset, Hampshire, Katahdin, Mora Colombiana, pelibuey, Persa cabeza negra, Romney Marsh y Santa Inés) obtuvo un promedio para Ho y He de 0,683 y 0,770. VIVAS, (2013) solo para el OPC presenta valores de He de 0,75. OCAMPO *et a.*, (2017) reporta valores de He promedio de 0,763 en las razas las razas Ovino de Pelo Colombiano, Criollo de Lana y Mora Colombian. Como es ya bien sabido los microsatelites son mejores para estimar la diversidad genética en razón de que no están bajo efectos de la selección natural y/o artificial como si lo esta un gen que puede tener efecto sobre características productivas como la prolificidad (OCAMPO *et a.*, 2017).

Una de las razones que explicaría el exceso de heterocigotos encontrado puede estar asociado a que dichos animales tienen mayor prolificidad y por tanto se les permite seguir reproduciéndose en el aprisco. Esta superioridad del genotipo heterocigoto para genes asociados a prolificidad se puede observar en la Tabla 2, donde todos los genotipos heterocigotos tienen mayor prolificidad que los homocigotos, excepto en el *locus* Lacaune (F_{ecL}). Sin embargo, dicho exceso de heterocigotos en esta investigación resultó ser no significativamente diferente de cero ($P > 0,05$) tanto a nivel intra-finca ($F_{IS} = -0,127$) como a nivel de toda la población de OPC analizada ($F_{IT} = -0,119$). Por su parte, OCAMPO *et al*, (2017) encontraron valores de F_{IS} y F_{IT} positivos y con valores de $P \leq 0,05$, indicando un déficit de heterocigotos.

En análisis de varianza molecular evidenció, que la variación entre las fincas era de solo 1%, lo que coincide con el bajo valor de F_{ST} estimado ($F_{ST} = 0,008$, $P > 0,05$). De acuerdo con WRIGHT, (1965) los valores de F_{ST} varían de 0 a 0,05 cuando existe una pequeña diferenciación genética, de 0,05 a 0,15 cuando hay moderada diferencia, de 0,15 a 0,25 cuando hay una gran diferencia y es mayor de 0,25 cuando hay una muy grande diferenciación genética entre las poblaciones. Lo anterior, significa que las fincas o poblaciones estudiadas se comportan como una sola gran población y que existe flujo de genes entre las fincas estudiadas. Esto último también, se logra evidenciar en la Tabla 8, donde los bajos valores de distancia genética entre fincas refieren el posible flujo de animales y/o genes entre ellas. Solo la finca LDI presentó valores altos de distancia, esto podría estar asociado al pequeño número de animales tomados en esta finca o la procedencia de estos (Figura 3).

Al contrario que en esta investigación, OCAMPO *et al*, (2017) encontró valores de F_{ST} de 0,054 ($P \leq 0,05$) indicador de una moderada diferenciación y VIVAS, (2013) de 0,03 ($P \leq 0,05$) y el análisis de Bayesiano de la estructura genética mostró que la población solo estaba formada por dos subpoblaciones.

6.2 Asociación de los polimorfismos FecX^R y FecG^I de los genes BMP15 y GDF9, respectivamente, con la prolificidad natural en ovinos de pelo criollos colombiano y determinación de algunos efectos no genéticos que afectan la prolificidad.

Se encontró una prolificidad promedio de $1,30 \pm 0,30$ corderos/parto. Este valor fue mayor al reportado por RODRÍGUEZ *et al*, (1995) en un cruce entre animales criollos colombianos x mejorados y al reportado en las razas Corriedale y Rommey en Colombia por CUELLAR-GAMBOA *et al*, (2015). Estos últimos autores analizando un número similar de partos en la raza criolla reportan un prolificidad similar a la aquí presentada, pero inferior al reportado en la raza Hampshire. Otros valores de prolificidad en razas a nivel del mundo se presentan Tabla 21.

En otros reportes de Latinoamérica, el presente valor solo es superado por la raza Blackbelly de México (ROJAS y RODRIGUEZ, 1995) (Tabla 21). En las razas Española Aragonesa la prolificidad es similar. Sin embargo, en esta misma raza, pero con genotipo heterocigoto FecX⁺/FecX^R la prolificidad es mayor, al igual que en animales con genotipo FecX⁺/FecX^R tratados con 480 UI de gonadotropina coriónica (LAHOZ *et al.*, 2011).

La comparación del OPC con la prolificidad reportada en el ovino canario y en razas de Estados Unidos y Francia, resultó un valor bajo de prolificidad. Aunque los valores del OPC son mayores a los reportados en las razas de India e Irán (Tabla 21).

Las diferencias encontradas en los valores de prolificidad en estas razas, pueden ser debidas a efectos de tipo nutricional, sanitario, manejo y de tamaño de muestra. Otros factores que pueden influenciar esta característica están desarrollados en el literal 3.3 del presente trabajo.

En la presente investigación no se asoció la variante $FecX^R$ con la prolificidad en razón de encontrarse monomórfico en la población. En individuos heterocigotos $FecX^+/FecX^R$ se aumentó la prolificidad en 0,63 corderos por parto, traducido en un aumento en el porcentaje de partos dobles de 31 a 46,9% y de partos triples de 1,3 a 9,7%. Dicho polimorfismo no afectó de manera significativa el peso al nacimiento de las crías, sus ganancias de peso diario y la calidad de la carne (ROCHE *et al.*, 2012; ALABART *et al.*, 2016). En otras mutaciones en el locus $FecX$, ovinos de la raza Pelibuey se encontró una mayor proporción de partos dobles y triples en individuos heterocigotos en los polimorfismos $FecX^G$ y $FecX^L$ y no en $FecX^H$, pues este resultó monomórfico (ARGUELLO-HERNANDEZ *et al.*, 2014).

No se encontró un efecto significativo del genotipo en el locus $FecG^I$ sobre la prolificidad ($P = 0,194$). Sin embargo, la prolificidad fue mayor en el genotipo heterocigoto ($FecG^+/FecG^I$) que en el homocigoto $FecG^+/FecG^+$, sin encontrarse el genotipo $FecG^I/FecG^I$. Adicionalmente la frecuencia del genotipo heterocigoto fue de 24% (Tabla 12). En concordancia con lo reportado por HANRAHAN *et al.*, (2004) no se encontró una asociación significativa de la prolificidad con el genotipo. De otro lado, MORADBAND *et al.*, (2011) y LIANDRIS *et al.*, (2012) presentan datos diferentes.

LIANDRIS *et al.*, (2012) en las razas griegas Chios y Karagouniki reportaron una diferencia significativa en la prolificidad promedio de la primera raza con el genotipo $FecG^I/FecG^I$ (2,25 corderos/hembra/parto) respecto a los otros genotipos ($FecG^+/FecG^I$ y $FecG^+/FecG^+$ con prolificidades promedio de 1,45 y 1,59, respectivamente). Mientras que, el genotipo $FecG^I/FecG^I$ no lo encontraron en la raza Karagouniki y la prolificidad promedio de los genotipos $FecG^+/FecG^I$ y $FecG^+/FecG^+$ fue de 1,07 y 1,32 respectivamente. A diferencia de este trabajo el genotipo heterocigoto fue más prolífico que en Karagouniki.

MORADBAND *et al.*, (2011) en la raza india Baluchi, reportaron que el genotipo más prolífico es el heterocigoto $FecG^+/FecG^I$ ($1,38 \pm 0,05$) respecto a los otros dos

genotipos $FecG^+/FecG^+$ ($1,23 \pm 0.03$) y $FecG^l/FecG^l$ ($1,03 \pm 0.05$). Este reporte concuerda este trabajo en que el genotipo heterocigoto es el más prolífico.

Como se evidenció, no existe una concordancia absoluta sobre cuál es el mejor genotipo. Las variaciones en la prolificidad de estos genotipos se deberá seguramente a que la sustitución nucleotídica G260A no es sinónima y conlleva al cambio de un Arginina por una Histidina en la posición 87 de la secuencia aminoacídica, y aunque ambos aminoácidos son polares, iónicos de carga negativa, el grupo guanidinio de la Arginina lo hace tener menor densidad de carga (MORADBAND *et al.*, 2011).

En la presente investigación no se encontró una asociación significativa entre el número del parto de la oveja y la prolificidad. En ovinos del centro Agropecuario Marengo, se reportaron un aumento en la prolificidad a medida que aumenta el número del parto, con valores de $1,21 \pm 0,46$ en el primer parto a $1,52 \pm 0,55$ en el cuarto parto (CUELLAR-GAMBOA *et al.*, 2015). En cruce entre animales de raza Pelibuey por Blackbelly HINOJOSA-CUELLAR *et al.*, (2015) reportan efecto significativo de la edad y número de parto sobre la prolificidad.

Tabla 21. Valores de prolificidad en distintas razas alrededor del mundo.

Raza	País	N. De Partos	Prolificidad	Referencia
Criollo OPC	Colombia	143	1,30 ± 0,30	Presente investigación
Criollo Colombiano X Mejorado	Colombia	2035	1,03 ± 0,02	RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 1995
Criollo	Colombia	155	1,34 ± 0,54	CUELLAR-GAMBOA <i>et al.</i> , 2015
Corriedale	Colombia	88	1,21 ± 0,44	
Hamshire	Colombia	147	1,41 ± 0,53	
Romney	Colombia	124	1,20 ± 0,40	
Pelibuey x Blackbelly	Mexico	1265	1,20 ± 0,01	HINOJOSA-CUELLAR <i>et al.</i> , 2015
Blackbelly	México	481	1,65 ± 0,12	ROJAS y RODRIGUEZ, 1995
Pelibuey	Cuba	----	1,20 ± 1,7	HERRERA <i>et al.</i> , 2010
Pelibuey	Venezuela	514	1,20 ± 0,39	DICKSON <i>et al.</i> , 2004
Aragonesa	España	50	1,34	LAHOZ <i>et al.</i> , 2011
Aragonesa (FecX ^R /+)	España		1,69	
Aragonesa (FecX ^R /+) + 480 UI de GC	España		1,85	
Ovino Canario	España	605	1,69 ± 0,63	CORTES, 2009
Targhee	USA	9705	1,51 ± 0,02	NOTTER, 2000
Suffolk	USA	12721	1,72 ± 0,01	
Polypay	USA	7231	1,79 ± 0,02	
Malpura	India		1,06 ± 0,01	GOPAL <i>et al.</i> , 2011
Lacaune	Francia	1975	1,72 ± 0,01	SANCRISTOBAL-GAUDY <i>et al.</i> , 2001
Kermani	Iran	860	1,06 ± 0,01	MOKHTARIA <i>et al.</i> , 2010

En razas ovinas de climas templados ROJAS y RODRIGUEZ (1995) en la raza Blackbelly encontraron efecto positivo del número de parto y tipo de nacimiento de la madre sobre la prolificidad. En la raza Baluchi de la India LIANDRIS *et al*, (2012) reportaron efecto del número del parto sobre la prolificidad, siendo las hembras de primer y segundo parto más prolíficas que las de tercero y cuarto parto. SANCRISTOBAL-GAUDY *et al*, (2001) en ovinos de la raza Lacaune de Francia encontraron un efecto similar del número de parto sobre la prolificidad.

Los anteriores resultados pudieron ser diferente al aquí presentado en razón a los pocos registros evaluados con alto número de parto (mayor a cinco partos solo 10 eventos). Otra posible explicación al fenómeno puede atribuirse a la edad (MOHAMMADABADI y SATTAYIMOKHTARI, 2013) y al peso corporal de la oveja al momento de apareamiento, ya que conforme la oveja madura y alcanza su desarrollo corporal y fisiológico completo, se hace más eficiente para mantener una gestación, producir más leche y expresar su habilidad materna (PÉREZ-RAMÍREZ *et al.*, 2003). Este proceso de crecimiento compite con la gestación y los procesos reproductivos por la obtención de nutrientes circulantes en el organismo generando disminuciones en parámetros reproductivos. Así es como sucede en la mayoría de los sistemas de producción extensivos tropicales que tienen apareamiento continuo, las ovejas son apareadas generalmente entre los 20 y 26 kg, bajo estas circunstancias, las ovejas tardan más tiempo en recuperar su condición corporal después del parto afectando sus índices reproductivos; a diferencia de los sistemas intensivos, donde el plano de nutricional resulta mayor y permite disponer de nutrientes para optimizar su comportamiento reproductivo (MAGAÑA-MONFORTE *et al.*, 2013).

Las tres variables relacionadas con la fecha de concepción de las crías no tuvieron relación significativa con la prolificidad. El año 2011 y el mes de junio presentaron mayor prolificidad tal vez en razón al menor número de montas realizadas en estos momentos. En la época de lluvia se encontró mayor prolificidad, corresponde con

los meses de mayo a noviembre, en estos meses del año es cuando mayor valor del parámetro en análisis se encontró.

Al igual que en el presente trabajo ROJAS y RODRIGUEZ (1995) no encontraron efecto de la época de nacimiento (llovizna de Junio a Septiembre) sobre la prolificidad. De otro lado, RODRÍGUEZ *et al.*, (1995) evaluaron la prolificidad en 24 cruces de tipo adsorbente o alternativo en diferentes proporciones de ovino criollo con Romey Marsh, Corriedale y Hampshire, encontrado efecto del año sobre el factor. En la raza Pelibuey de Venezuela se reportó un efecto significativo del año del parto sobre la prolificidad que varió desde $1,07 \pm 0,09$ corderos/parto en el año de menor prolificidad hasta $1,38 \pm 0,09$ en el año de mayor prolificidad, pero no se encontró efecto de la estación (llovizna de Abril a Noviembre) (DICKSON *et al.*, 2004). Por su parte, HINOJOSA-CUÉLLAR *et al.*, (2015) en ovinos Pelibuey x Blackbelly y sus cruces con Dorper y Katahdin en México reportaron efecto significativo del año, pero no de la época sobre la prolificidad.

En razas europeas, SANCRISTOBAL-GAUDY *et al.*, (2001) en ovinos de la raza Lacaune de Francia encontraron efecto del año sobre la prolificidad, al igual que, ovejas de las Islas Canarias mantenidas en un sistema intensivo (CORTES, 2009), pero no por la estación (invierno, primavera, verano y otoño).

El estudio de estas variables es importante porque permite evaluar los cambios en los indicadores productivos en el tiempo (HINOJOSA-CUÉLLAR *et al.*, 2013). Sin embargo, con la información disponible es complejo explicar cómo cambios en las condiciones ambientales (por ejemplo, precipitación pluvial), disponibilidad de forrajes y manejo del rebaño (MAGAÑA-MONFORTE *et al.*, 2013), carga animal e incidencia de parásitos pueden afectar la prolificidad encontrada en esta investigación.

Aunque en el presente estudio no se midió la condición corporal de la oveja al momento de la concepción, la época de lluvia representa un período en donde existe

mayor disponibilidad de forraje para las ovejas, y por lo tanto las hembras se preñarían más temprano que aquellas con mala condición corporal como consecuencia de la escasez de pasto según la época del año. Esto repercute directamente sobre factores relacionados con la producción de oocitos, procesos de implantación del o los cigotos, sobrevivencia del embrión, el feto y finalmente sobre la normalidad del parto. Efecto de época de partos en la productividad de las ovejas es informado por MAGAÑA-MONFORTE *et al*, (2013).

El único factor que presentó efecto significativo sobre la prolificidad fue el padre, estos resultados son similares a los presentados por CORTES, (2009) en ovinos de las Islas Canarias y por SANCRISTOBAL-GAUDY *et al*, (2001) en ovinos de la raza Lacaune de Francia. Las diferencias en la prolificidad de los padres pueden estar íntimamente relacionada con la condición corporal, el estado nutricional, estado sanitario, la proporción machos: hembra en los lotes de monta y descanso del macho entre épocas o estaciones de monta. Las cuales repercuten de una u otra manera sobre la calidad espermática y la función reproductiva.

La prolificidad no se correlacionó significativamente con ninguna otra variable. RODRÍGUEZ *et al*, (1995) evaluaron la prolificidad en 24 cruces de tipo adsorbente o alterno en diferentes proporciones de ovino criollo con Romey Marsh, Corriedale y Hampshire, encontrando una prolificidad promedio de $1,03 \pm 0,02$. De igual manera que el tipo de cruzamiento afecto la prolificidad, siendo los cruces de Romey Marsh x Criollo y Hampshire x Criollo en proporciones de $\frac{1}{2}$ en ambos casos los más prolíficos.

El número del parto y el año de concepción presentaron una correlación positiva ($P < 0,0001$), lo que indica un aumento en el número de concepciones en el tiempo. La época y el mes de concepción también se correlacionaron, esto es razón de un cambio en el manejo reproductivo del rebaño hacia monta estacional. Esta afirmación también la corrobora la correlación negativa encontrada entre el número de parto y mes. DICKSON *et al*, (2004) al respecto aseguran que es probable que

estas relaciones estén afectadas con el manejo general y con la condición corporal al momento de la concepción, puesto que el peso de la madre estuvo correlacionado significativamente ($P \leq 0,01$) con la prolificidad; los valores más bajos se encontraron durante años con el menor peso de la madre.

El genotipo de la hembra se correlacionó negativamente con el número de parto de la madre en razón del cambio hacia a animales más prolíficos, que, aunque este análisis no encontró asociación positiva al respecto, seguramente debido a que la prolificidad en el OPC no está influenciada por este polimorfismo. GOPAL *et al*, (2011) mostraron el efecto de un adecuado plan de manejo genético de la majada al realizar la introgresión de la raza Garole de alta prolificidad debida al gen Fec^B en la raza autóctona Malpura de la India, aumentando la prolificidad de 1,06 a 1,69 corderos por parto.

El padre se correlacionó negativamente con el año de concepción, esta correlación se debe al cambio de machos reproductores en el aprisco, ellos se cambian a medida que estos van envejeciendo, disminuyendo su nivel productivo, para evitar problemas de consanguinidad y en caso de introducir nuevos genes con fines de mejoramiento genético.

7. CONCLUSIONES

El *locus* *FecX^R* resultó ser monomórfico con la ausencia del alelo mutado, tal vez debido a efectos de deriva genética o a que la raza donde se reportó por primera vez esta mutación no hace parte de las razas fundadores del OPC. En razón de ser monomórfico no se realizó el análisis de asociación con la prolificidad en el OPC.

El *locus* *FecG^I* del gen *GDF9* fue polimórfico con mayor frecuencia del alelo silvestre ($FecG^+ = 0,89$), este valor fue similar el reportando en diferentes razas en todo el mundo. No se encontró en genotipo homocigoto *FecG^I/FecG^I*, la ausencia de este genotipo puede estar asociado a que algunos autores reportan a que este produce ovejas estériles que son eliminadas de los sistemas de producción. Por otro lado, el genotipo heterocigoto *FecG⁺/FecG^I* tuvo una frecuencia de 22%, con un exceso de heterocigotos no significativo. No se encontró una estructura poblacional marcada, indicando que las fincas de OPC se comportan como una sola gran población con flujo de genes entre ellas.

La prolificidad promedio encontrada fue de $1,30 \pm 0,30$, esta fue similar a la de otros reportes en OPC, y al encontrado en otras razas criollas y similar al presentado en razas foráneas en Colombia, pero inferior a lo reportado en razas de climas subtropicales. El genotipo en el *locus* *FecG^I* no afectó significativamente la prolificidad, aunque, fue mayor cuando el animal fue heterocigoto, lo que coincide con diferentes autores. En número del parto de la madre al igual que el mes, la época y el año de concepción no afectaron significativamente la prolificidad, a pesar, de que se evidenció mayor prolificidad con el aumento del número de parto, en el mes de junio, en época de lluvias y en el año 2011. Solo el padre afectó la prolificidad, aunque seguramente en razón a las diferencias entre el número de datos disponibles para cada uno de ellos.

8. RECOMENDACIONES

Ampliar el tamaño de muestra para ratificar la ausencia del polimorfismo FecX^R en el OPC o genotipar mediante secuenciamiento de ADN el gen BMP15 en razón de buscar nuevos polimorfismos que logren explicar la variación encontrada en la prolificidad. Esto también se puede aplicar al gen GDF9, pues el polimorfismo encontrado no fue suficiente para explicar la prolificidad encontrada.

A pesar de no encontrarse una asociación estadísticamente significativa del *locus* FecG^I con la prolificidad, se evidenció que los individuos heterocigotos son mejores, esto puede ser usado en futuros planes de mejoramiento genético encaminados a aumentar la frecuencia de este genotipo.

La falta de registros de datos productivos en los sistemas de producción ovina es la mayor limitante al momento de implementar investigaciones, por lo que la colecta de estos datos es indispensables para mejorar y hacer más precisas las investigaciones.

9. BIBLIOGRAFÍA

ARGÜELLO-HERNÁNDEZ, J.; CORTEZ-ROMERO, C.; ROJAS-MARTÍNEZ, I.; SEGURA-LEÓN, L.; HERRERA-HARO, 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*, 48: 53-69.

ARÉVALO, G. A. Y CORREA, A. G. 2013. Tecnología en la ovinocultura colombiana: estado del arte. *Revista Ciencia Animal*. 6: 125-149

ALABART, J.; LAHOZ, B.; CALVO, J.; JURADO, J; FANTOVA, E.; EQUIPO TÉCNICO DE UPRA- GRUPO PASTORES Y FOLCH, J. 2016. Estudios realizados y situación actual de la variante génica prolífica ROA (FecX^R) de la raza ovina Rasa Aragonesa. *Archivos de Zootecnia*, 65 (251): 449-452.

BARZEGARI, A.; ATASHPAZ, S.; GHABILI, K.; NEMATI, Z.; RUSTAEI, M.; AZARBAIJANI, R. 2010. Polymorphisms in GDF9 and BMP15 associated with fertility and ovulation rate in Moghani and Ghezel sheep in Iran. *Reproduction Domestic Animals*, 45: 666-669.

BODIN, L.; DI PASQUALE, E.; FABRE, S.; BONTOUX, M.; MONGET, P.; ERSANI, 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 :393-400.

BURATOVICH, O. 2010a. Eficiencia reproductiva en ovinos: factores que la afectan. Parte 1: La alimentación. *Carpeta técnica ganadera No, 34*. P.1-4. Sitio Argentino de Producción Animal. www.producción-animal.com.ar. Consultado: 21 de Septiembre de 2017.

BURATOVICH, O. 2010b. Eficiencia reproductiva en ovinos: factores que la afectan. Parte 2: Otros factores no nutricionales. *Carpeta técnica ganadera No, 36*. P.1-4. Sitio Argentino de Producción Animal. www.producción-animal.com.ar. Consultado: 21 de Septiembre de 2017.

CASTELLANOS, J. G; RODRÍGUEZ, J. C; TORO, W. L Y LUENGAS, C. L. 2010. *Agenda prospectiva de investigación y desarrollo tecnológico para la cadena productiva cárnica ovino – caprina en Colombia*. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural.

CAÑÓN, J. 2006. Utilización de información molecular en programas de mejoramiento animal. Revista corpoica – Ciencia y Tecnología Agropecuaria. 7 (1): 5-15.

CHU M, J.; YANG, T.; FENG, G.; CAO, L.; FANG, R.; DI, D.; HUANG, Q.; TANG, Y.; MA, K.; LI, N.; LI. 2011. GDF9 as a candidate gene for prolificacy of Small Tail Han sheep. Molecular Biology Reproduction, 38:5199-5204

CORPOICA – Corporación colombiana de investigación agropecuaria Ministerio de Agricultura y desarrollo Rural 2003. Situación de los recursos zoogenéticos en Colombia. Instituto colombiano agropecuario ICA. 119 p.

CORTES, V. 2009. Factores que afectan los días a la concepción, tamaño y peso de la camada en ovinos Canarios manejados intensivamente. Tesis de grado. División de Ciencia Animal. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. España 26 pp.

CUELLAR-GAMBOA, G.; JIMENEZ-ROBAYO, L.; GRAJELS-LOMBANA, H.; MORALES-MENDOZA, L.; LEAL-GUTIERREZ, J.; SANCHEZ-ISAZA, C. 2015. Factores que influyen la prolificidad en ovinos del centro agropecuario marengo, Colombia. Actas Iberoamericanas de Conservación Animal, 6: 460-465.

DAVIS, G.; GALLOWAY, S.; ROSS, I.; GREGAN, S.; WARD, J.; NIMBKAR, B.; GHALSASI, P. 2002. DNA tests in prolific sheep from eight countries provide new evidence on origin of the Booroola (FecB) Mutation. Biology Reproduction, 66: 1869-1874.

DAVIS, GH. 2005. Major genes affecting ovulation rate in sheep. Genetic Selection and Evolution, 37: S11-S23.

DAVIS, GH.; BALKRISHNAN, L.; ROSS, IK.; WILSON, T.; GALLOWAY, SM.; LUMSDEN, BM.; HANRAHAN, JP. 2006. Investigation of the Booroola (Fec B) and Inverdale (Fec X I) mutation in 21 prolific breeds and strains of sheep samples in 13 countries. Animal Reproduction Science, 92: 87-96.

DEHNAVI, E; AZARI, M. A; HASANI, S; NASSIRY, M. R; MOHAJER, M Y AHMADI, A. R. 2012. Genetic variability of calpastatin and calpain genes in Iranian Zel sheep using PCR-RFLP and PCR-SSCP methods. Iranian Journal of Biotechnology. 10 (2).

DELGADO, J. V.; LEÓN, J. M.; GÓMEZ, M.; NOGALES, S.; CAMACHO, M. E. 2009. Las razas ovinas ibéricas y su participación en la colonización de Iberoamérica. Libro: Biodiversidad vna Iberoamericana. Caracterización y uso sustentable. Córdoba – España. 14:18:33

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.

DROUILHET, L.; LECERF, F.; BODIN, L.; FABRE, S.; MULSANT, P. 2009. Fine mapping of the Fecl locus influencing prolificacy in Lacaune sheep. *Animal Genetic*, 40(6): 804-12.

ESTRADA, C. A.; SANDOVAL, J.; GUEVARA, F. M Y FUJITA, R. 2005. Uso de la técnica SSCP para detectar mutaciones puntuales del ADN mitocondrial humano. *Revista Peruana de Biología*. 12 (3): 349-358.

FAO. 2010. La situación de los recursos zoogenéticos mundiales para la alimentación y la agricultura. Marcadores moleculares: una herramienta para explorar la diversidad genética. pp 393 – 416.

GALLOWAY, S.; McNATTY, K.; CAMBRIDGE, L.; LAITINEN, M.; JENNIFER, J.; JOKIRANTA, S.; McLAREN, R. 2000. Mutations in an oocyte-derived growth factor gene (BMP15) cause increased ovulation rate and infertility in a dosage-sensitive manner. *Natural Genetic*, 25: 279-283.

GHADERI. A.; NASARI, MT.; MIRZADEH, KH.; FAYAZI, J.; SADR, AS. 2010. Identification of the GDF9 mutation in two sheep breeds by using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) technique. *Afr J Biotechnol*, 9:8020-8022.

GOPAL, R.; ASHISH, L.; PRINCE L.; MISHRA, A.; ARORA. A. 2011. Genetic analysis for growth traits of prolific Garole x Malpura (GM) sheep. *Tropical Animal Health Production*, 43: 299–303. DOI 10.1007/s11250-010-9718-8

GRAJALES, H.; TOVIO, N. 2010. Importancia de la oveja criolla colombiana como base genética en proyectos productivos. Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá. Primer congreso internacional de producción ovina-*Centro de Convenciones CAFAM - La Floresta*.

GONZALES, M. D. 2011. Artículo de Reflexión. Pequeños rumiantes: un proyecto con posibilidad de rentabilidad. *Conexión Agropecuaria JDC*, 1 (1): 67-74.

GRAJALES, H., MORENO, D. Y CÁRDENAS, E. 2010. Guía técnica de producción ovina y caprina: aspectos de manejo y control nutricional y alimenticio. Bogotá: Corpoica.

HANRAHAN, P.J.; GREGAN, SM.; MULSANT, P.; MULLEN, M.; DAVIS, GH.; POWELL, R.; GALLOWAY, SM. 2004. Mutations in the genes for oocytederived growth factors GDF9 and BMP15 are associated with both increased ovulation rate and sterility in Cambridge and Belclare sheep (*Ovis aries*). *Biology and Reproduction*, 70: 900-909.

HERRERA, J.; JORDÁN., H.; SENRA., A.F. 2010. Aspectos del manejo y alimentación de la reproductora ovina Pelibuey en Cuba. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 44(3): 211-219.

HINOJOSA-CUÉLLAR, J.; OLIVA-HERNÁNDEZ, J.; TORRES-HERNÁNDEZ, G.; SEGURA-CORREA, J. 2013. Comportamiento productivo de corderos F1 Pelibuey x Blackbelly y cruces con Dorper y Katahdin en un sistema de producción del trópico húmedo de Tabasco, México. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 45:135-143.

HINOJOSA-CUELLAR, J.; OLIVIA-HERNANDEZ, J.; TORRES-HERNANDEZ, G.; SEGURA-CORREA, J.; GONZALES-GARDUÑO, R. 2015. Productividad de ovejas F1 Pelibuey x Blackbelly y sus cruces con Dorper y Katahdin en un sistema de producción del trópico húmedo de Tabasco, México. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 47: 167-174.

HOHENBOKEN, W.; CORUM, K.; BOGART, R. 1976. Genetic, enviromental and intaction effects in sheep. Reproduction and lamb production per ewe. *Jornal of Animal Science*, 42(2): 299-306.

ICA. 2016. Censo Nacional Agropecuario 2016. Disponible en: <http://www.ica.gov.co/getdoc/8232c0e5-be97-42bd-b07b-9cdbfb07fcac/Censos-2008.aspx> Consultado: 26 de Agosto de 2016.

JAVANMARD, A.; AZADZADEH, N.; ESMAILIZADEH, A. 2011. Mutations in bone morphogenetic protein 15 and Growth Differentiation Factor 9 genes are associated with increased litter size in fat-tailed sheep breeds. *Vet Res Com*, 35: 157-167.

KASIRIYAN, M.; HAFEZIAN, S.; HASSANI, N. 2010. Genetic polymorphism BMP15 and GDF9 genes in Sangsari sheep of Iran. *International Journal of Genetics and Molecular Biology*, 3(1): 31-34.

KUMAR, S.; STECHER, G; TAMURA, K. 2016. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis versión 7.0 for datasets. *Biology and Evolution*, 33: 1870-1874.

LAHOZ, B.; ALABART, J.; JURADO, J.; CALVO, J.; MARTÍNEZ-ROYO, A.; FANTOVA, E.; FOLCH, J. 2014. Effect of the FecXR polymorphism in the bone morphogenetic protein 15 gene on natural or equine chorionic gonadotropin-induced ovulation rate and litter size in Rasa Aragonesa ewes and implications for on-farm application. *Journal Animal Science*, 89: 3522-3530.

LOZANO, H. 2014.; Reproducción ovina en Colombia. *Revista de Ciencia Animal*, 8: 67-83.

LIANDRIS, A, E.; KOMINAKISB, A.; ANDREADOUA, M.; KAPEOLDASSIA, K.; CHADIOA, S.; TSILIGIANNI, TH.; GAZOULID, M.; IKONOMOPOULOSA, 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 16-21. <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.04.004>.

LIRON, J.P., BRAVI, C.M., MIROL, P.M., PERAL-GARCIA, P. Y GIOVAMBATTISTA, G. 2006. African matrilineages in American Creole cattle: evidence of two independent continental sources. *Animals Genetics*, 37(4): 379–382.

MAGAÑA-MONFORTE, JG, HUCHIN-CAB, M.; AKE-LÓPEZ, R.; SEGURA-CORREA J. 2013. A field study of reproductive performance and productivity of Pelibuey ewes in Southeastern Mexico. *Trop Anim Health Prod* 25,173-178

MARTÍNEZ-ROYO, A.; JURADO, J.; SMULDERS. P.; MARTÍ, I.; ALABART, A.; ROCHE, I.; FANTOVA, I.; BODIN, L.; MULSANT, P.; SERRANO, M.; FOLCH, J.; AND CALVO, J. 2008. A deletion in the bone morphogenetic protein 15 gene causes sterility and increased prolificacy in rasa aragonesa sheep.. *International Society for Animal Genetics, Animal Genetics*,10:1 1-3.

MARTÍNEZ, R.S; VÁSQUEZ, R.R Y BALLESTERO, H. 2009a. El ovino criollo en Colombia, conservación, caracterización y evaluación de la variabilidad genética.

Libro Biodiversidad ovina iberoamericana. Caracterización y uso sustentable. pp 235 – 261.

MARTÍNEZ, A.; DERVISHI, E.; ALABART, J.; JURADO, J.; FOLCH, J.; CALVO, J. 2009b. Freemartinism and FecXR allele determination in replacement ewes of the Rasa Aragonesa sheep breed by duplex PCR. *Theriogenology*, 72(8): 1148-52.

McNATTY, KP.; SMITH, P.; MOORE, LG.; READER, K.; LUN, S.; HANRAHAN, JP. 2005. Oocyte-expressed genes affecting ovulation rate. *Molecular Cell Endocrinology*, 234(1-2): 57-66.

MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL (MADR). 2014. Sector ovino y caprino.

MOHAMMADABADI MR, R SATTAYIMOKHTARI. 2013. Estimation of (co) variance components of ewe productivity traits in Kerman sheep. *Slovak J Anim Sci*, 46: 45-51.

MOKHTARIA, M.S.; RASHIDIB, A.; ESMAILIZADEHC, A. 2010. Estimates of phenotypic and genetic parameters for reproductive traits in Kermani sheep. *Small Ruminant Research*, 88: 27-31.

MONTEAGUDO, LV.; PONZ, R.; TEJEDOR, MT.; LAVINA, A.; SIERRA, I. 2009. A 17 bp deletion in the Bone Morphogenetic Protein 15 (BMP15) gene is associated to increased prolificacy in the Rasa Aragonesa sheep breed. *Animal Reproduction Science*, 110: 139-146.

MONTGOMERY, G.; GALLOWAY, S.; DAVIS, G.; McNATTY, KP. 2001. Genes control ovulation rate in sheep. *Reproduction*, 121: 843-852.

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-Aust J Anim Sci*, 24, 1179-1183.

MULSANT, P.; LECERF, F.; FABRE, L.; SCHILBER, L.; MONGET, P.; LANNELUC, I.; PISSELET, C. 2001. Mutation in bone morphogenetic protein receptor-1B is associated with increased ovulation rate in Booroola Merino ewes. *Proceedings of National Academy of the Science*, 98: 5104-5109.

MUÑOZ, C. E. Y BARAJAS, F. V. 2000. Memoria V congreso iberoamericano de razas autóctonas y criollas. Importancia del Merino en el desarrollo del Ovino en América. Noviembre. La Habana. Cuba. 171 – 180p

NOTTER, D. 2010. Effects of ewe age and season of lambing on prolificacy in US Targhee, Suffolk, and Polypay sheep. *Small Ruminant Research*, 38: 1-7

NOTTER, D. 2012. Genetic improvement of reproductive efficiency of sheep and goats. *Animal Reproduction Science*, 130: 147-151.

OCAMPO.,R. 2014. Caracterización genética de ovinos en Colombia por medio de marcadores microsatelitales.(tesis para obtener el título en Maestría de Ciencias Animales). Universidad de Antioquia.

OCAMPO., R. MARTÍNEZ., J. MARTINEZ.,R. 2017. Diversidad genética y estructura poblacional de ovinos criollos colombianos usando marcadores microsatélites. Corpoica. Disponible en:https://www.researchgate.net/publication/319263583_Diversidad_genetica_y_estructura_poblacional_de_ovinos_criollos_colombianos_usando_marcadores_microsatelites [accessed Oct 26 2017].

PARDOS, L.; FANTOVA, E.; BRU, CH.; BUÑUEL, M.; CUARTIELLES, I. Y LARRAZ, V. 2010. Influencia de la presencia del alelo ROA y de la selección por prolificidad poligénica en los resultados económicos de explotaciones ovinas de carne en Aragón. XXXV Jornadas SEOC. L. Rodríguez et al. (Eds.). Instituto Tecnológico Agrario. Consejería de Agricultura y Ganadería. Junta de Castilla y León. pp. 461-465.

PAZ, E.; QUIÑONES, J.; BRAVO, S.; RODERO, E.; GONZALEZ, A.; SEPÚLVEDA, N. 2014. Identificación de los polimorfismos G1 y G8 del gen GDF9 en ovinos criollos Araucanos. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 46: 327-331.

PAULINI, F.; MELO, E. 2011. The Role of Oocyte-Secreted Factors GDF9 and BMP15 in Follicular Development and Oogenesis. *Reproduction Domestic Animals*, 46, 354-361. doi: 10.1111/j.1439-0531.2010.01739.x

PÉREZ-RAMÍREZ, H.; SEGURA-CORREA, JC.; ALUJA, SA. 2003. Environmental and genetic effects that affect pre-weaning performance of Pelibuey sheep under grazing tropical conditions in Mexico. *Rev Latinoam Peq Rum* 2, 317-335.

POLLEY, S.; BRAHMA, B.; MUKHERJE, A.; VINESH, P.; BATABYAL, S.; ARORA, J.; PAN, S.; SAMANTA, A.; DATTA, T.; GOSWAMI, S. 2010. Polymorphism of

BMPR1B, BMP15 and GDF9 fecundity genes in prolific Garole sheep. *Tropical Animal Health Production*, 42: 985-993.

ROCHE, A.; RIPOLL, G.; JOYA, A.; FOLCHA, J.; PANEEA, B.; CALVO, J.; ALABART, J. 2012. Effects of the FecXR allele of BMP15 gene on the birth weight, growth rate and carcass quality of Rasa Aragonesa light lambs. *Small Ruminant Research*, 108. 45-53. <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.06.011>.

R DEVELOPMENT CORE TEAM (2008). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.

RODRÍGUEZ, M.; LÓPEZ, A.; GRAJALES, H.; NARANJO, A. 1995. Evaluación de parámetros productivos y reproductivos en cruces de cuatro razas ovinas. *Revista Medicina Veterinario y Zootecnia*, 43(1): 14-18.

ROJAS, O.; RODRIGUEZ, O. 1995. Factores que modifican la prolificidad en ovejas Blackbelly en clima tropical. *Tecnología Pecuaria de México*, 33(3): 159-167.

SANCRISTOBAL-GAUDY, M.; BODIN, L.; ELSEN, J.; CHEVALET, C. 2001. Genetic components of litter size variability in sheep. *Genetic and Selection Evolution*, 33: 249-271.

SILVA, BDM.; CASTRO, EA.; SOUZA, C.; PAIVA, S.; SARTORI, R.; FRANCO, M.; AZEVEDO, H. 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 Genetic*, 42(1): 89-92.

SOUZA, C.; MACDUGALL, C.; CAMPBELL, B.; McNEILL, Y.; BAIRD, DT. 2001. The Booroola (FecB) phenotype is associated with a mutation in the bone morphogenetic receptor type 1 B (BMPR1B) gene. *Journal Endocrinology*, 169: R1-R6.

SUDHAKAR, A.; RAJENDRAN, R.; RAHUMATHULLA, P.S. 2013. Detection of Booroola (FecB) mutation in Indian sheep—Nilagiri. *Small Ruminant Research* 113: 55-57.

VERA, J.; BRAVO, S.; PAZ, E.; SEPÚLVEDA, N. 2014. Detección de polimorfismos en el gen de efecto mayor gdf9 en rebaños de ovejas corriedale en la región de Aysén, Chile. *Chilean J. Agric. Anim. Sci., ex Agro-Ciencia*, 31(1): 15-20.

VIÑALES, C.; MEIKLE, A.; MARTIN, G. 2009. Short-term nutritional treatments grazing legumes or feeding concentrates increase prolificacy in Corriedale ewes. *Anim Repro Sci*, 113(1): 82-92.

VIVAS, N. 2013. Diversidad genética de ovinos criollos colombianos. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia. 98p.

WILSON, T.; WU, X.; JUENGEL, J.; ROSS, I.; LUMSDEN, J.; LORD, E.; DODDS, K.; WALLING, G.; McEWAN, J.; O'CONNELL, A.; McNATTY, K.; MONTGOMERY, G. 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 Reproduction*, 64: 1225-1235.

WRIGHT, S. 1965. The Interpretation of Population Structure by F-Statistics with Special Regard to Systems of Mating. *Evolution* 19(3): 395-420. JSTOR 2406450. Doi:10.2307/2406450.