

# VARIANTES GÉNICAS ASOCIADAS CON CARACTERES REPRODUCTIVOS Y SU UTILIZACIÓN EN EL ESQUEMA DE SELECCIÓN DE OVEJAS DE RASA ARAGONESA

La utilización de marcadores genéticos en los programas de mejora genética hace que sean más eficientes y, sobre todo, para aquellos caracteres que presentan una baja heredabilidad y una difícil y costosa medida, como son en general los caracteres reproductivos. Por otra parte, hay que tener en cuenta, que habría que validar sus efectos en poblaciones comerciales que usan tratamientos hormonales o un manejo diferente, que podrían producir interacciones y por lo tanto modificar los resultados de los genes analizados.

**Calvo, J.H.<sup>1,2</sup>; Lakhssassi, K.<sup>3</sup>; Jiménez, M.A.<sup>4</sup>; Sarto, M.P.<sup>1</sup>; Equipo Veterinario de UPRA y Oviaragón-Grupo Pastores<sup>5</sup>; Alabart, J.L.<sup>1</sup>; Lahoz, B.<sup>1</sup>; Serrano, M.<sup>4</sup>.**

<sup>1</sup> CITA-IA2. Av. Montañana 930, 50059, Zaragoza, España.

<sup>2</sup> ARAID. Av. Ranillas I-D, 50018, Zaragoza, España.

<sup>3</sup> INRA-BP 6356, Rabat, Marruecos.

<sup>4</sup> INIA-CSIC. Ctra. de La Coruña km 7,5. 28040 Madrid, España.

<sup>5</sup> Unión de Productores de Rasa Aragonesa (UPRA) - Grupo Pastores. Mercazaragoza, Edificio Pastores, Ctra. Cogullada 65, 50014, Zaragoza, España.

Rebaño de Rasa Aragonesa en el campo.

En Aragón, el número de cabezas de ovejas reproductoras de carne se sitúa próximo al millón de ejemplares (894.944), lo que supone el 11% de ovejas de aptitud cárnica del total del ovino de carne en España (MAPA, 2022). La Indicación Geográfica Protegida (IGP) 'Ternasco de Aragón' es la que más toneladas de carne vende al año en España, el 46,1% de toda la carne con denominación. Sin embargo, Aragón muestra una tendencia descendente del censo ovino como el resto de España, debido a motivos tales como el envejecimiento de los ganaderos, la escasez de relevo generacional, la falta de innovación en las ganaderías, la disminución del consumo de carne de ovino, y la disminución de la rentabilidad económica de las explotaciones. Este último factor ha llevado a muchos ganaderos a abandonar la actividad debido al incremento de los costes de

alimentación (precio de los cereales) y del combustible, así como a otros problemas como son la escasez de mano de obra, o la menor disponibilidad de pastos por la intensificación de la agricultura.

Una vía para aumentar la rentabilidad de las explotaciones es mejorar la eficiencia productiva y reproductiva de los animales, sin incrementar, e incluso disminuyendo, los insumos. En Aragón, la Rasa Aragonesa es la principal raza ovina, y diversos estudios realizados con datos de gestión técnico-económica en una muestra constante de explotaciones, han demostrado que uno de los factores que influyen en la rentabilidad de las mismas es el número de corderos vendidos por oveja y año (Pardos et al., 2012), y que un incremento del 1% en la prolificidad supone un aumento de un 3,4% del margen bruto por oveja de la ganadería y por unidad trabajo hombre

(UTH) (Fantova et al., 2016). Igualmente, en un trabajo reciente se muestra que las explotaciones con mayor número de corderos vendidos por oveja presentan mejores índices de rentabilidad (Pardos et al., 2022). En este mismo sentido, se ha cuantificado que el coste que supone para una explotación una oveja que permanece improductiva durante un año es de 82,8 €/oveja (0,226 €/día; Pardos y Fantova, 2018), de ahí, la importancia de reducir periodos improductivos mediante la disminución de la edad al primer parto o la mejora de la fertilidad en primavera. En resumen, podemos decir que las explotaciones que obtienen los mejores resultados económicos son aquellas que presentan unos mayores ingresos procedentes de la venta de corderos por oveja, mejorando sus índices técnicos, especialmente la prolificidad y la producción de corderos contra estación reproductiva.

Centro de Selección  
y Mejora Genética  
de Ovino y Caprino  
de Castilla y León.



*Ovigen*

**Dosis Seminales**  
refrigeradas y congeladas

**Banco de Semen**

Servicio de **Inseminación Artificial**

**Transferencias de Embriones**

Cursos de **Formación**

**Proyectos de Investigación Aplicada**



Ejemplares de Rasa Aragonesa en el interior de una explotación ganadera.

Una de las herramientas para incrementar la eficiencia de las explotaciones es la selección genética. Sin embargo, el avance de los programas de selección genética clásicos, basados exclusivamente en el control de rendimientos (fenotipos) y las relaciones genealógicas entre los animales, tienen una eficiencia limitada en términos de respuesta a la selección ya que la mayoría de los caracteres reproductivos presentan heredabilidades bajas. Además, muchos de estos caracteres se miden en un solo sexo por lo que se requiere pruebas de descendencia y las predicciones genéticas son estimadas con una baja fiabilidad. Por otra parte, algunos de estos caracteres son costosos y difíciles de medir, como el caso de la estacionalidad reproductiva (análisis hormonales). El uso de herramientas moleculares permite superar algunas de las limitaciones de los métodos tradicionales de predicción del mérito genético. La posibilidad de utilizar genes/marcadores responsables de una proporción significativa de la varianza fenotípica de caracteres de interés económico (ETLs) es una estrategia de gran interés para un desarrollo más eficiente de los Programas de Mejora Genética, y

sobre todo, como anteriormente se ha comentado, para aquellos caracteres con baja heredabilidad, difíciles de medir, y que se expresan en un solo sexo.

En ovino de carne, estas variantes genéticas están siendo utilizadas en la selección asistida por marcadores (SAM), o en la selección asistida por genes (CAS; del inglés "Gene Assisted Selection") en caso de conocer la mutación responsable, cuya aplicación es relativamente sencilla desde el momento en que se conoce exactamente la mutación causal, su función y el efecto que tiene sobre los caracteres. Un ejemplo de este proceso de GAS en genética animal es la utilización del genotipo del gen de resistencia al scrapie (PRNP) en los programas de selección del ganado ovino. En este sentido, la estrategia consiste en incrementar la frecuencia de los alelos que confieren resistencia a la enfermedad por selección o introgresión génica, mediante la preselección de reproductores portadores de dichos alelos. Otro ejemplo claro de la utilización de marcadores genéticos y utilización de GAS en caracteres reproductivos es el Programa de Mejora

Genética de la UPRA-Grupo Pastores (Unión de Productores de Raza Rasa Aragonesa). Este programa se inició en 1994, y gracias al mismo, en el año 2007 se descubrió la existencia de un alelo de hiperprolificidad (FecXR) en el gen BMP15, localizado en el cromosoma X (Martínez-Royo et al., 2008), que se denomina ROA® (Rasa OviAragón - N° patente ES2338960) a nivel comercial. La hembra que porta este alelo en heterocigosis posee una prolificidad de 0,32 corderos/parto superior a la media de la población, mientras que en homocigosis produce esterilidad. Además, de considerar la preselección de reproductores portadores de esta variante con ventajas productivas, el Programa de Mejora Genética incluye el genotipo para este marcador en el modelo de valoración genética para el carácter prolificidad con el objetivo de conocer el mérito genético para la prolificidad eliminando el efecto de este alelo, debido a la alta frecuencia del mismo en la población.

Por otra parte, el desarrollo de un programa de selección conlleva la necesidad de controlar las relaciones genealógicas de los animales implicados, que permitirá la elección de los mejores reproductores para el carácter objeto de selección, así como llevar a cabo los apareamientos que permitan mantener la máxima variabilidad posible. La falta de genealogías completas y los errores en la declaración de paternidades afectan a la precisión y fiabilidad de las valoraciones genéticas, y por tanto influyen en la eficiencia de los Programas de Selección. En el Programa de Mejora Genética llevado a cabo por UPRA, la confirmación y asignación de las paternidades se está llevando a cabo mediante un panel de 192 SNPs (polimorfismos de un solo nucleótido): 159 SNPs para la asignación de paternidad (Calvo et al., 2020a), y 33 SNPs funcionales. Los 159 SNPs utilizados para paternidad mostraron ser un panel eficaz y altamente informativo en las razas Rasa Aragonesa, Navarra, Ansotana,

Xisqueta, Churra Tensina, Ojinegra de Teruel, Cartera, Maellana, y Roya Bilbilitana. Los SNPs funcionales son aquellos que producen un cambio en la función de la proteína (cambio de un aminoácido, o por ejemplo la introducción de un codón de parada en la síntesis de la secuencia proteica que daría lugar a proteínas no funcionales en la mayoría de las ocasiones), que afectan a regiones reguladoras del gen, o que están en desequilibrio de ligamiento con una mutación asociada a un fenotipo de interés (cerneas a la mutación responsable, y por lo tanto pueden servir como para SAM), como podría ser la fertilidad. Entre estos SNPs funcionales, en este panel se pueden incluir SNPs con efectos sobre determinados caracteres en otras razas que se quieran validar, por ejemplo, en Rasa Aragonesa, como describiremos más adelante. Entre los SNPs funcionales incluidos en este panel destacan los de resistencia al scrapie (codones clásicos del gen PRNP), los alelos de prolificidad del gen BMP15, y otros relacionados con la estacionalidad reproductiva, o edad al primer parto.

En relación a los SNPs contenidos en este panel y asociados a la prolificidad, además del alelo FecXR/ROA, se incluyen dos SNPs con gran efecto sobre la prolificidad (genes mayores) que son el alelo prolífico Grivette (FecXGr), ya descrito en otras razas, y el nuevo alelo prolífico FecXRA, localizados también en el gen BMP15 (Calvo et al., 2020b). Estos alelos se detectaron recientemente en Rasa Aragonesa mediante un estudio de asociación de genoma completo (GWAS) utilizando animales con valores genéticos extremos para el carácter prolificidad. El alelo Grivette en homocigosis no produce esterilidad sino hiperprolificidad (Demars et al., 2013), que es necesario cuantificar en Rasa Aragonesa. La tercera variante génica asociada a la prolificidad en Rasa Aragonesa, FecXRA, no había sido descrita hasta el momento en otras razas ovinas, y se encuentra en baja frecuencia en la población de Rasa Aragonesa,

produciendo esterilidad en homocigosis y un incremento de 0,42 corderos/parto superior a la media de la población en heterocigosis. Con esta nueva variante genética, también localizada en el gen BMP15 y denominada como ROA2, la Rasa Aragonesa se convierte en una de las pocas razas mundiales en la que están segregando conjuntamente tres variantes génicas con gran efecto para el carácter prolificidad.

Como se ha comentado anteriormente, en el panel de SNPs también se incluyen marcadores genéticos asociados a la estacionalidad reproductiva, destacando 3 marcadores localizados en el receptor 1A de la melatonina (MTNR1A; SNP rs403212791), el receptor de la leptina (LEPR; SNP rs403578195) y el gen que codifica para la proteína CD226 (CD226; SNP rs404360094) (Calvo et al., 2018; Lakhssassi et al., 2020, 2021), que producen todos ellos el cambio de un aminoácido que altera la secuencia proteica, y por lo tanto posiblemente su funcionalidad. El estudio del efecto de estos SNPs en el carácter estacionalidad reproductiva se llevó a cabo mediante estudios de gen candidato y GWAS en un rebaño de Rasa Aragonesa de la finca experimental La Pardina de Ayés perteneciente a Oviaragón-Grupo Pastores. Este rebaño, no recibió tratamientos hormonales mientras duró el experimento. Las ovejas estuvieron estabuladas, y posteriormente cuando hubo pasto suficiente, salieron a pastar a unas praderas polifitas de montaña.

Las ovejas se pesaron y se midió su condición corporal cada 3 semanas, así como los niveles de progesterona en sangre, caracterizándose de enero a agosto dos fenotipos relacionados con

la actividad reproductiva en primavera: días totales de anestro (DTA; relacionado con la actividad ovárica, mediante medidas de los niveles de progesterona en sangre, que indicarían si el ovario está activo o no) definido como el número de días en anestro estacional; y el porcentaje de meses cíclicos mediante la detección de celos (PMC; relacionado con la actividad sexual) definido como el porcentaje de meses en los que las ovejas presentaron al menos un celo. La detección y registro diario de celos se ha llevado a cabo mediante monta natural con machos vasectomizados provistos de arneses con pastillas marcadoras. Recientemente, se ha llevado a cabo un estudio considerando los tres SNPs simultáneamente y la misma población estudiada, con el fin de determinar los efectos corregidos de los mismos y las posibles interacciones entre estos SNPs (Figura 1) (Lakhssassi, 2023).

Los tres SNPs mostraron asociación significativa con el fenotipo DTA, aunque el SNP rs403212791 (MTNR1A) no fue significativo para el PMC aunque si mostró una tendencia, como se puede observar en la Figura 1, a diferencia de lo encontrado en el estudio de Calvo et al. (2018). Por otra parte, los SNPs rs403578195 (LEPR) y rs404360094 (CD226) resultaron significativos para ambos fenotipos. Los genotipos que se encontraron en menor frecuencia, alrededor del 5%, para los SNPs localizados en los genes LEPR (GC) y CD226 (AA), se asociaron a una mayor inactividad ovárica (incremento de 21 y 39 días en los DTA), así como una reducción en los celos (un 10 y 17% menor en el PMC, respectivamente). En el caso del gen MTNR1A el genotipo en menor frecuencia, alrededor del 11% (TT), disminuía en 36 días los DTA.



Pastor con su rebaño en el campo.

Los resultados sugieren que los SNPs rs403212791 (MTNR1A), rs403578195 (LEPR) y rs404360094 (CD226) influyen en los caracteres de estacionalidad reproductiva en hembras de Raza Aragonesa y que podrían ser utilizados en selección (SAM), incrementando la frecuencia de los alelos favorables del gen MTNR1A y disminuyendo la de los alelos desfavorables encontrados en los genes LEPR y CD226. En este sentido, la existencia de estos SNPs en el panel de SNPs para la asignación de paternidad facilita el conocimiento del genotipo de éstos en los animales de reposición, y por lo tanto posibilita su uso en la toma de decisiones del Programa de selección. Como se ha comentado anteriormente, otra utilidad de este panel es el estudio de SNPs que se han encontrado asociados a otros caracteres en otras razas, y que se pueden validar en la población en la que se está utilizando el panel de SNPs. Recientemente, en un análisis de asociación GWAS con los 192 SNPs en 4.010 ovejas, pertenecientes a 16 explotaciones de Raza Aragonesa con fenotipos registrados para los caracteres reproductivos prolificidad y edad al primer parto, se detectaron dos nuevos SNPs asociados a estos fenotipos: el SNP rs596133197 localizado en el gen LEPR, y el SNP rs410015353 localizado en el gen DGAT1, produciendo ambos el cambio de un aminoácido que podría afectar a la funcionalidad de la proteína (Lakhssassi et al., 2023). Los datos reproductivos, genealógicos, y los efectos utilizados para la estima de los fenotipos, provinieron de la base de datos del esquema de mejora genética por prolificidad de Raza Aragonesa (UPRA-Grupo Pastores). Los fenotipos usados en los estudios de asociación fueron el VG para la prolificidad, y los residuos obtenidos de un modelo GLM para la edad al primer parto. El efecto del SNP rs596133197 del gen LEPR sobre la prolificidad fue modesto en heterocigosis +0,09, mientras que en homocigosis su efecto fue de +0,60, aunque se debe puntualizar que sólo hay 18 partos de 8 animales homocigotos. Igualmente,

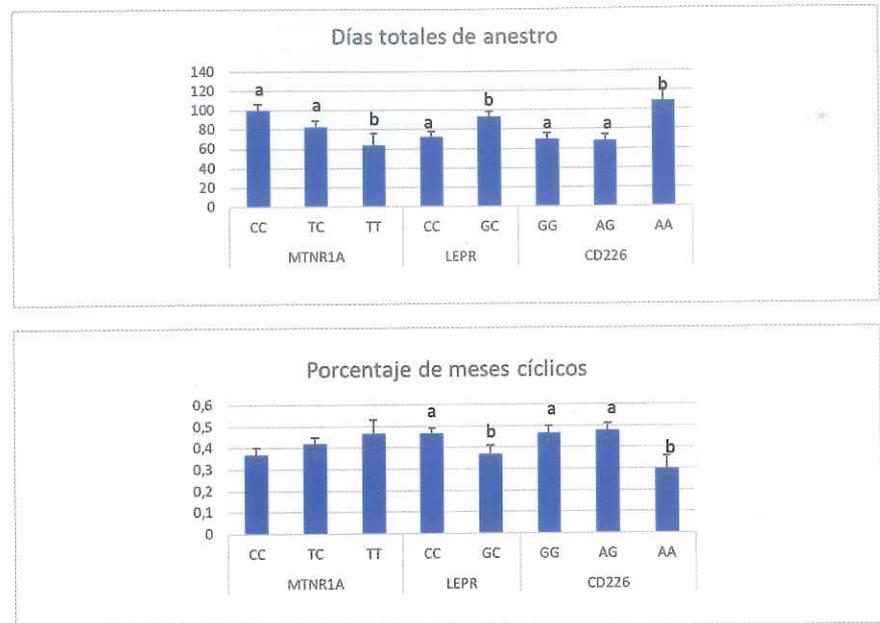


Figura 1. Medias mínimo cuadráticas y errores estándar de los diferentes genotipos para los SNPs localizados en el receptor 1A de la melatonina (MTNR1A), el receptor de la leptina (LEPR) y el gen que codifica para la proteína CD226 (CD226), para los fenotipos días totales de anestro y porcentaje de meses cíclicos. Letras distintas indican diferencias significativas entre genotipos de cada gen a, b:  $p < 0,05$ .

también se encontraron asociados a un incremento de la prolificidad los alelos FecXGr y FecXR del gen BMP15, con un efecto de +0,17 y +0,41 corderos/parto, respectivamente, con más de 13.000 partos registrados en estos animales. El SNP rs410015353, localizado en el gen DGAT1 y que produce el cambio de un aminoácido, se asoció a un retraso de la edad al primer parto de 54,9 en 69 animales heterocigotos con respecto a los homocigotos para el alelo en mayor frecuencia.

No se encontraron animales homocigotos para el alelo en baja frecuencia. La utilidad de estos marcadores en el esquema de selección es directa ya que se están validados en explotaciones comerciales, en concreto en 16 explotaciones que tenían animales genotipados y datos fenotípicos para estos caracteres. En conclusión, la utilización de marcadores genéticos en los Programas de Mejora Genética hace que éstos sean más eficientes, y sobre todo, para aquellos caracteres que presentan una baja heredabilidad y una difícil y costosa medida, como son en general los caracteres

reproductivos. Por otra parte, hay que tener en cuenta, que habría que validar sus efectos en poblaciones comerciales que usan tratamientos hormonales o un manejo diferente, como el efecto macho, que podrían producir interacciones y por lo tanto modificar los resultados de los genes analizados. ■

## Agradecimientos

A UPRA-Grupo Pastores (Unión de Productores de Raza Rasa Aragonesa), y ganaderos de Raza Aragonesa, por su implicación y participación activa en los diferentes proyectos que han dado lugar al aislamiento de las variantes génicas asociadas a caracteres reproductivos. Estos trabajos se han desarrollado mediante diferentes proyectos de la UE (INTEREG-POCTEFA EFA103/15\_PIRINNOVI), Ministerio de Ciencia e Innovación (INIA RTA2013 00041-C02-02 y RTA2015-00090), y del Gobierno de Aragón (GCP-2019-0038-00, GCP-2022-0010-00, FITE- TERGENOVID, INPASS\_A25\_23R), así como a fondos FEDER.