



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

**MAESTRÍA EN CIENCIAS ZOOTÉCNICAS Y
SALUD ANIMAL**

TESIS

**IDENTIFICACIÓN Y ANÁLISIS DE LAS
MUTACIONES EN LOS EXONES I Y II DEL GEN
BMP15 Y SU ASOCIACIÓN CON EL TAMAÑO DE
LA CAMADA DE LA OVEJA KATAHDIN**

Para obtener el grado de

Maestro en Ciencias Zootécnicas y Salud Animal

PRESENTA

MVZ. José Eduardo Barrón González

Director

Dr. Vicente Vega Sánchez

Codirector

Dr. Blas Rogelio Avila Castillo

Comité tutorial

Dr. Miguel Paul Conde Hinojosa

Dra. Andrea Paloma Zepeda Velázquez

Ciudad Universitaria Tulancingo, 20 de Junio del 2025

Asunto: Autorización de impresión

Mtra. Ojuky del Rocío Islas Maldonado
Directora de Administración Escolar de la UAEH

El Comité Tutorial de la TESIS del programa educativo de posgrado titulado "Identificación y análisis de las mutaciones en los exones I y II del gen *BMP15* y su asociación con el tamaño de la camada de la oveja Katahdin", realizado por el sustentante, José Eduardo Barrón González con número de cuenta 338064 perteneciente al programa de Maestría en Ciencias Zootécnicas y Salud Animal, una vez que ha revisado, analizado y evaluado el documento recepcional de acuerdo a lo estipulado en el artículo 110 del reglamento de estudios de posgrado, tiene bien a extender la presente:

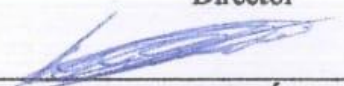
AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

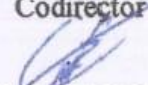
Por lo que la sustentante deberá cumplir los requisitos del Reglamento de Estudios de Posgrado y con lo establecido en el proceso de grado vigente.

Atentamente
"Amor, Orden y Progreso"
 Tulancingo de Bravo, Hidalgo, a 20 de junio de 2025

El Comité Tutorial


Dr. Vicente Vega Sánchez
 Director


Dr. Blas Rogelio Ávila Castillo
 Codirector


Dr. Miguel Paul Conde Hinojosa
 Asesor


Dra. Andrea Paloma Zepeda Velázquez
 Asesor

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme la capacidad de aprender, entender y retener toda la basta información que este trabajo requirió para ser concluido.

A mi director de tesis el Dr. Vicente Vega Sánchez, por creer en el presente proyecto, por el conocimiento compartido, su invaluable orientación, paciencia y dedicación a lo largo de este proceso y sobre todo su valiosa amistad, gracias Dr.

A los miembros de mi comité tutorial, el Dr. Blas Rogelio Ávila Catillo codirector de este trabajo y mis asesores la Dra. Andrea Paloma Zepeda Velázquez y el Dr. Miguel Paul Conde Hinojosa, por sus comentarios constructivos, tiempo invertido en revisiones y su apoyo a lo largo de este proyecto.

A mis padres y hermana, por el apoyo incondicional y todos los momentos gratos que motivaron el concluir el presente proyecto en mi vida, muchas gracias.

A la EMVZ Dayali Saday Rodríguez Solís, por todo el apoyo físico y moral para culminar este trabajo de tesis, sin ti no habría sido posible, muchas gracias.

A mis amigos y colegas el MVZ Saúl Gutiérrez Peñaloza y la MVZ Laura Katia Lemus Ortiz, quienes me abrieron las puertas de su unidad de producción “Ovinos SK” aportando material biológico y datos productivos para generar conocimiento y aportar un granito de arena en la mejora constante de la ovinocultura nacional quien a su tiempo se los premiara.

Finalmente, extendiendo mi gratitud a todos los investigadores y compañeros de la Maestría en Ciencias Zootécnicas y Salud Animal, por contribuir de manera importante desarrollo de esta investigación, aportando conocimientos valiosos en las aulas y momentos gratos en cualquier momento, sin su ayuda, este proyecto no hubiera sido posible.

A todos, mi más sincero agradecimiento.

DEDICATORIA

Dedico esta obra a mis padres, el Sr. José Eduardo Barrón Gutiérrez y la Sra. María de la Luz González Montiel y mi Hermana María Guadalupe Barrón González, quienes con su ejemplo y apoyo me han formado por el camino del bien.

Dedico también esta tesis a la EMVZ Dayali Saday Rodríguez Solís, por su paciencia y por creer en mí, y que este proyecto sea uno de los primeros de muchos en esta vida.

A mis amigos y familiares, quienes me han brindado su apoyo a lo largo de mi proceso de formación profesional.

Por último, dedico este trabajo a todos aquellos que creen en el conocimiento como herramienta para ser mejores cada día, quienes en el encuentran la felicidad y plenitud, y a quienes realizan el honroso deber de aplicar y transmitir dicho conocimiento contribuyendo al avance del sector rural en México.

RESUMEN

En los ovinos la prolificidad es un parámetro reproductivo determinante para sustentabilidad económica de muchos productores rurales en todo el mundo, es necesaria para aumentar la rentabilidad, repoblar los rebaños y satisfacer la demanda de productos ovinos, la regulación de la prolificidad en ovejas está dada por una interacción compleja del ambiente y el genotipo, dadas las necesidades del mercado de la carne se ha buscado hacer eficiente el manejo reproductivo, por lo que se han buscado implementar razas de ovejas con características reproductivas superiores, lo que a su vez ha llevado a la búsqueda de genes asociados a la prolificidad y que puedan ser usados como marcadores genéticos en la selección de vientres tales como el gen *GDF9*, el gen *BMPRIB* y el gen *BMP15*, algunas mutaciones identificadas en estos genes se les ha atribuido un efecto positivo sobre la tasa de ovulación en el ganado ovino. En el presente estudio se analizó mediante secuenciación Sanger la región codificante del gen *BMP15* a partir de muestras obtenidas de ovejas de la raza Katahdin con historial reproductivo, se identificó la variante 31-33, delección de un codón en el exón 1 lo que repercute en la pérdida de una Leucina. A través de PCR-PF con un iniciador específico fue posible obtener la frecuencia genotípica con 11.9% de ovejas homocigotas, 69.05% de ovejas heterocigotas y un 19.05% de ovejas silvestres, a través del modelado tridimensional de la proteína mutante comparada con la máxima similitud se identificó un cambio en el plegamiento de la estructura secundaria de una hoja beta de la proteína madura sin pérdida de la función aparente. De acuerdo con la prueba de Hardy-Weinberg el rebaño no se encuentra en equilibrio ($P < 0.05$) concluyendo que existe sobre esta población un factor de selección artificial, la prueba de F exacta de Fisher no detectó significancia en la asociación de la prolificidad con alguno de los genotipos detectados ($P > 0.05$), sin embargo los hallazgos encontrados pueden ser útiles para el estudio más profundo de este gen en rebaños con un mayor número de ovejas, sin un manejo reproductivo establecido, así como de otros genes asociados al tamaño de la camada que puedan servir como marcadores en futuros programas de mejoramiento genético.

ABSTRACT

In sheep, litter size is a determining reproductive parameter for economic sustainability of many rural producers around the world, it is necessary to increase profitability, restock flocks and meet the demand for sheep products, the regulation of litter size in sheep is given by a complex interaction of environment and genotype, given the needs of the meat market has sought to make efficient reproductive management, This in turn has led to the search for genes associated with litter size that can be used as genetic markers in the selection of ewes, such as the *GDF9* gene, the *BMPRII* gene and the *BMP15* gene; some mutations identified in these genes have been attributed a positive effect on the ovulation rate in sheep. In the present study, the coding region of the *BMP15* gene was analyzed by Sanger sequencing from samples obtained from Katahdin sheep with reproductive history. The variant 31-33 was identified, a deletion of a codon in exon I, which results in the loss of a leucine through PCR-PF with a specific primer it was possible to obtain the genotypic frequency with 11.9% of homozygous sheep, 69.05% of heterozygous sheep and 19.05% of wild sheep, through the tridimensional modeling of the mutant protein asarada with maximum similarity was identified a change in the folding of the secondary structure of a beta sheet of the mature protein without apparent loss of function. According to the Hardy-Weinberg test the herd is not in equilibrium ($P < 0.05$) concluding that there is an artificial selection factor on this population, the Fisher's exact F test did not detect significance in the association of with any of the detected genotypes ($P > 0.05$), however the findings may be useful for further study of this gene in flocks with a larger number of ewes, without established reproductive management, as well as other genes associated with litter size that may serve as markers in future breeding program.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS.....	<i>i</i>
DEDICATORIA	<i>ii</i>
RESUMEN.....	<i>iii</i>
ABSTRACT	<i>iv</i>
ÍNDICE.....	<i>v</i>
ÍNDICE DE FIGURAS	<i>vii</i>
ÍNDICE DE TABLAS	<i>viii</i>
1. INTRODUCCIÓN	<i>1</i>
2. MARCO TEÓRICO	<i>2</i>
2.1. Origen de los ovinos	<i>2</i>
2.2. Panorama general de la ovinocultura	<i>2</i>
2.3. Raza Katahdin	<i>3</i>
2.3.1 Característica de la raza Katahdin	<i>3</i>
2.4. Fisiología reproductiva de la oveja	<i>4</i>
2.5. Folículos ováricos	<i>5</i>
2.5.1. Endocrinología Folicular	<i>6</i>
2.6. Foliculogénesis	<i>6</i>
2.6.1. Regulación genética de la foliculogénesis	<i>7</i>
2.7. Gen de la proteína BMP15	<i>8</i>
2.8. Función de la proteína BMP15 sobre el folículo	<i>8</i>
2.9. Mutaciones del gen <i>BMP15</i> y su efecto	<i>10</i>
2.10. Técnicas de identificación de polimorfismos para el gen <i>BMP15</i>	<i>13</i>
2.10.1. Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLP)	<i>13</i>
2.10.2. Secuenciación Sanger	<i>13</i>
2.10. 3. Heteroduplex	<i>14</i>
2.10.4. Polimorfismo de conformación de cadena simple (SSCP)	<i>14</i>
2.10.6. Micro-arreglos	<i>15</i>
2.10.7. El análisis de las curvas de fusión (HRM)	<i>15</i>
2.10.8. Secuenciación de nueva generación	<i>16</i>
3. JUSTIFICACIÓN.....	<i>17</i>
4. HIPÓTESIS.....	<i>18</i>
5. OBJETIVOS.....	<i>18</i>
5.1. Objetivo general.....	<i>18</i>

5.2. Objetivos específicos	18
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
6.1. Animales y toma de muestras sanguíneas	19
6.2. Pruebas <i>in silico</i> de iniciadores.....	20
6.3. Análisis de genomas ovinos disponibles <i>insilico</i>	21
6.4. Extracción de DNA y amplificación por PCR	21
6.5. Análisis bioinformático	23
6.6 Análisis y modelado de la proteína mutante.....	23
6.7 Análisis estadísticos.....	23
7. RESULTADOS.....	24
7.1. Tamaño de muestra.....	24
7.2. Análisis de genomas disponibles	24
7.3. Secuencias del gen <i>BMP15</i> de ovejas Katahdin	26
7.4. Frecuencias genotípicas y alélicas	27
7.5. Efecto de la variante 31-33 sobre la estructura de la proteína BMP15	28
7.6. Determinación de las frecuencias alélicas y prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg.....	29
7.7. Asociación de los haplotipos y el tamaño de la camada	29
8. DISCUSIÓN.....	30
9. CONCLUSIONES.....	34
10. LITERATURA CITADA	35

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Eje hipotálamo hipófisis gónadas, (FB-) feedback negativo, (FB+) feedback positivo, fuente: elaboración propia.....	5
Figura 2. Aproximación de la vía de señalización de la proteína BMP15 sobre la célula de la granulosa en el folículo.	9
Figura 3. Determinación del tamaño de la muestra en el software Gpower.	19
Figura 4. Alineación del cromosoma X de distintas ovejas disponibles.	24
Figura 5. Análisis de identidad del gen <i>BMP15</i> entre distintas razas de ovejas.	25
Figura 6. Variantes identificadas en el gen <i>BMP15</i> de 17 razas de ovejas.	25
Figura 7. Amplificado de los exones I y II del gen <i>BMP15</i> de ovejas Katahdin amplificados por PCR punto final y visualizados en electroforesis en gel de agarosa.	26
Figura 8. Resultados de las secuencias de ovejas Katahdin.	26
Figura 9. SNP T755 del exón II de un control externo de raza Dorper.	27
Figura 10. Resultados de la alineación del exón I comparado con el ARNm de referencia.	27
Figura 11. Resultado del genotipado de los individuos mutantes en la secuencia.	28
Figura 12. Efecto de la Variante 31-33 sobre la estructura de la proteína BMP15.	29

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Mutaciones reportadas del gen de la proteína BMP15.	11
Tabla 2. Iniciadores y condiciones de la PCR utilizada para amplificar los exones I y II del gen <i>BMP15</i>	22
Tabla 3. Tabla de contingencia de los grupos de altas y bajas prolíficas con relación a los haplotipos identificados.	28
Tabla 4. Resultados obtenidos por diferentes autores asociados con la prolificidad y comparados con los resultados obtenido en el presente estudio.....	33

1. INTRODUCCIÓN

La ovinocultura es una actividad económica complementaria a los ingresos del productor y está fundamentada en la cría y administración del ganado ovino (*Ovis aries*) en las zonas rurales de todo el mundo (Galaviz et al., 2011). En el mundo son China, Australia, India, Irán y Nigeria respectivamente los países que encabezan la producción ovina. México aporta el 0.71% de la distribución mundial de ganado ovino (Hernández et al., 2017). Las principales regiones de producción de ovinos se encuentran ubicadas entre los 35 y 55 grados en el norte de Europa y Asia, y entre los 30 y 45 grados sur en América, Australia y Nueva Zelanda (Morris, 2017). La pandemia COVID-19 trajo consigo estragos sobre la producción de carne, lo que resultó en una baja productividad, alta demanda y el incremento del precio, durante este periodo de pandemia la producción ovina sufrió cambios drásticos empezando por el incremento de la producción mundial de un 0.9% de 2019 a 2020, sin embargo el comercio de la misma se vio reducida en 2.9%, debido a las restricciones sanitarias, actualmente existe una crisis en la producción debido a la pérdida de diversas unidades de producción (Ijaz et al., 2021; FAO, 2021). En México la ovinocultura es uno de los sectores con mayor desabasto de carne, siendo también una de las actividades pecuarias con mayor tasa de rentabilidad (CANACITRA, 2012; Hernández et al., 2017).

La prolificidad (número de corderos nacidos por oveja parida) es un parámetro reproductivo, asociado a un rasgo económico de importancia en la producción de corderos para abasto de carne y reproductivamente hablando en este se expresa la fecundidad y la fertilidad (Rodríguez et al., 2002; Di et al., 2021). Este parámetro puede ser influenciado de forma positiva o negativa por diferentes factores asociados al medio ambiente, nutricional, de salud, entre otros (Buratovich et al., 2011). Sin embargo, se ha atribuido un efecto positivo a la presencia de mutaciones en el gen de la proteína 15 morfogénica ósea (BMP15) que se encarga de la regulación de la expresión de otros genes implicados en la folículo-genesis mediante la vía de señalización intracelular de las proteínas Smad (Moraes et al., 2022). Algunas variantes del gen de la proteína BMP15 se han asociado con el tamaño de la camada de algunas razas de ovejas (Palomera & Morales, 2014). En México, la raza Katahdin es una de las más utilizadas como ovejas reproductoras, dadas sus características maternas, fertilidad y prolificidad, sin embargo, en esta raza no se tienen estudios sobre el gen *BMP15*. Por lo que el objetivo del presente estudio fue identificar las mutaciones del gen de la proteína BMP15 en ovejas Katahdin multíparas con historial reproductivo (al menos dos partos), mediante la secuenciación de los exones I y II del gen *BMP15*, utilizando el método de Sanger, para determinar su asociación con la prolificidad.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Origen de los ovinos

Las primeras civilizaciones que cultivaron cereales y domesticaron ganado se desarrollaron en el sudoeste de Asia hace unos 11 mil años antes de nuestra era (Chessa et al., 2009). Se estima que las primeras especies en ser domesticadas fueron los ovinos y caprinos, lo cual se corroboró a partir de estudios mediante marcadores genéticos, las ovejas fueron criadas para obtener carne, posteriormente se diversificó su uso con la producción de lana lo que llevó a seleccionar individuos de doble propósito mejorando así a las razas primitivas de las cuales se originaron razas como el Mouflon, Soay, Hebrideans, Orkney, Islandés y Nordic. Estas razas modernas se extendieron con éxito a Europa, África y al resto de Asia (Rider, 1983; Chessa et al., 2009).

En México, en el año 1525 durante la conquista fueron traídos los primeros ovinos por los españoles, dichos ovinos fueron de las razas Manchega, Lacha y Churra en la actualidad es posible encontrar ovejas estrechamente parecidas en los estados del sur del País (Alonso et al., 2017).

Actualmente, la ovinocultura en México se ha especializado en carne y se desarrolla, en la zona central del País, con el uso de las razas Suffolk, Hampshire, Rambouillet, Katahdin, Dorper, Pelibuey y animales criollos, en la región sur-sureste con razas de pelo Pelibuey, Black Belly, Katahdin y Dorper (Partida et al., 2013).

2.2. Panorama general de la ovinocultura

La ovinocultura es una actividad fundamentada en la alimentación, reproducción, sanidad, mejoramiento genético y administración de la producción ovina (Buratovich, 2010). En el mundo, los principales países productores de ovinos son China, Australia, India, Irán y Nigeria (Hernández et al., 2017). China es el principal productor de cabezas de ganado ovino en pie, aportando el 16.3% de la producción mundial con 194 millones 927 mil 240 cabezas de ganado. México ocupa el lugar 40 en la actividad, produciendo 8 millones 710 mil 781 cabezas de ganado aportando aproximadamente 64 millones 758 toneladas de carne con un consumo per cápita de 781g (SIAP, 2015). En México, la ganadería de pequeños rumiantes ha estado en manos de productores marginados de menores recursos económicos y alejados de los beneficios de asistencia técnica y tecnológica (Hernández et al., 2017). A la fecha, como país en desarrollo, México tiene una demanda insatisfecha en productos de origen animal, por el aumento en la población, la inflación y el cambio climático (CANACINTRA, 2012). Económicamente, la ovinocultura en México tiene una de las mejores tasas de rentabilidad y perspectiva de crecimiento, es también una actividad apoyada por la SADER, por ofrecer oportunidades de ingreso a familias de escasos recursos (Cuéllar et al., 2012; Barrón et al., 2019).

El estado de Hidalgo ocupa el segundo lugar Nacional aportando el 11.8% de la producción de ovinos, solo por debajo del Estado de México que aporta el 16.3%. En Hidalgo, la ovinocultura es una de las actividades agropecuarias principales, con un total de 1 millón 206 mil 673 cabezas y 7 mil 25 toneladas de carne hasta el año 2015 (SIAP, 2016).

El 95% de la carne de ovino en México es consumida en barbacoa, alimento típico mexicano, consumido y elaborado en la zona centro del país, el resto se distribuye en otros platillos típicos y cortes de carne (SIAP, 2014; Hernández et al., 2017).

En México, actualmente dicha actividad enfrenta desafíos productivos importantes ante una demanda emergente de carne de ovino insatisfecha y la necesidad de importar dicho producto, ya que solo se produce el 84% de la demanda, el 16% restante, se importa de Nueva Zelanda, Estados Unidos, Australia, Chile y Uruguay, y solo se tiene reporte de exportación para Sudamérica de ejemplares reproductores (Hernández et al., 2017). Esto impacta directamente en la actividad gastronómica que depende del abasto de carne ovina en el estado de Hidalgo. Del 2015 al 2019 se presentó un decremento del 6.2%, (1 millón 131 mil 718 cabezas) y en 2021 el valor mínimo reportado fue 1 millón 103 mil 235 cabezas, lo que representa una pérdida del 2.5 % de cabezas destinado para carne (SIAP, 2022). Lo anterior asociado también a la pandemia de la Covid-19 que obligó a disminuir el inventario de unidades de producción dado el incremento en los precios de los insumos y, sobre todo, la restricción de eventos sociales de los cuales depende este sector, reduciendo un 70% de la demanda y hasta un 40% de los precios. Con el regreso de las actividades sociales vuelve también la demanda de carne ovina (SIAP, 2022; IICA, 2022).

2.3. Raza Katahdin

Es una raza originaria de Estados Unidos, creada por Michel Piel a partir de ganado ovino del Caribe, con el fin de producir carne. Combinando el pelaje, proliferación y fortaleza de las ovejas del Caribe con el tipo de carne y la velocidad de crecimiento de las especies lanares Británicas como la Suffolk. La raza se completó después de 20 años de cruza selectivas, obteniendo un rebaño al que se le llamo Katahdins, llamadas así por el Monte Katahdin en Maine. Posteriormente, en 1970 se integra a las cruza la raza de pelo Wiltshire Horn, originaria de Inglaterra, la cual agrega caracteres de tamaño y mejores características propias del animal para consumo (UNO, 2023).

2.3.1 Característica de la raza Katahdin

En México las ovejas Katahdin son muy adaptables gracias a su origen, sus características genéticas le permiten en invierno desarrollar una capa de pelo gruesa que pierden en las estaciones cálidas, son también significativamente más tolerantes a los parásitos que las ovejas lanares, tienen un

temperamento sumamente dócil y fácil de manejar, instinto maternal fuerte sumado a una buena producción de leche, el peso de una oveja madura en pie y en buenas condiciones va de 54.4 Kg a 72.5 Kg y un carnero maduro va de 81.6 a 113.4 Kg y el peso promedio de gemelos recién nacidos es de alrededor de 3.6 Kg. Reproductivamente se caracteriza por tener una pubertad temprana, vida reproductiva larga y baja estacionalidad, la prolificidad se considera moderada con reportes de hasta 2 corderos por parto en rebaños bien trabajados y ocasionalmente producen trillizos o cuatrillizos. Estas características han popularizado esta raza en Estados Unidos lo que sumado a bajas tasas de endogamia vuelven a esta una buena raza maternal utilizada en cruces para obtener corderos para abasto (UNO; 2023; Arismas et al., 2023; Nilson et al 2024).

2.4. Fisiología reproductiva de la oveja

Reproductivamente la oveja es un animal monotoco poliestrico estacional, por lo que generalmente sus partos constan de un solo producto y presenta un período de anestro durante una gran parte del año, lo que impacta en los parámetros productivos (Lozano et al., 2012). Estos periodos de estacionalidad de las diferentes razas ovinas están asociados a la cercanía con el eje del ecuador. En regiones más alejadas a este, cuyo clima es templado y las razas ovinas son de lana tienen estacionalidad marcada con ciclos reproductivos en estaciones con días cortos (menos horas luz), mientras que, en climas tropicales ubicados en regiones más cercanas al ecuador, en donde los días son más largos y las razas originarias son de pelo tienen pocos o nulos periodos estacionales (Bartlewski et al., 2011).

La hembra ovina tiene un ciclo estral de 16 a 17 días (Bartlewski et al., 2011). Este consta de 2 fases, las cuales son reguladas endocrinológicamente por el eje hipotálamo hipófisis gonadal (Figura 1); la primera de estas es la fase lútea que integra a su vez las etapas de metaestro y diestro, que va desde el día 2 hasta el día 13 del ciclo, se caracteriza por la formación y función del cuerpo lúteo, estructura cuya función principal es mantener la gestación, mediante la síntesis de la hormona progesterona (P4) y la segunda de las fases es la folicular la cual integra a su vez las etapas de proestro y el estro que va del día 14 o fin de diestro e inicio del proestro y hasta el día 1 del ciclo llamado estro, en esta fase se lleva a cabo la lisis del cuerpo lúteo mediante la acción de la prostaglandina F2 alfa sintetizada por las células endometriales en el útero tras el estímulo de la oxitócina sintetizada en el hipotálamo, en la fase folicular se lleva a cabo también la maduración folicular a cargo de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) sintetizada en el hipotálamo, esta a su vez estimula el desarrollo de oleadas foliculares a través de la hormona folículo estimulante (FSH) y la ovulación tras el pico preovulatorio de la hormona luteinizante (LH). El folículo dominante produce inhibina hormona responsable de la atresia de los folículos subordinados, mediante el bloqueo de la FSH volviendo al folículo dominante dependiente de LH, dicho folículo también produce estradiol (E2), hormona responsable del

comportamiento de estro y receptibilidad del macho, también es capaz de ejercer una retroalimentación positiva o negativa sobre la secreción de la GnRH, de esta manera es posible el inicio de un nuevo ciclo estral o mantenimiento de una gestación a través del reconocimiento embrionario mediante el IFN-T sintetizado por el trofoblasto del embrión (Uribe et al., 2009).

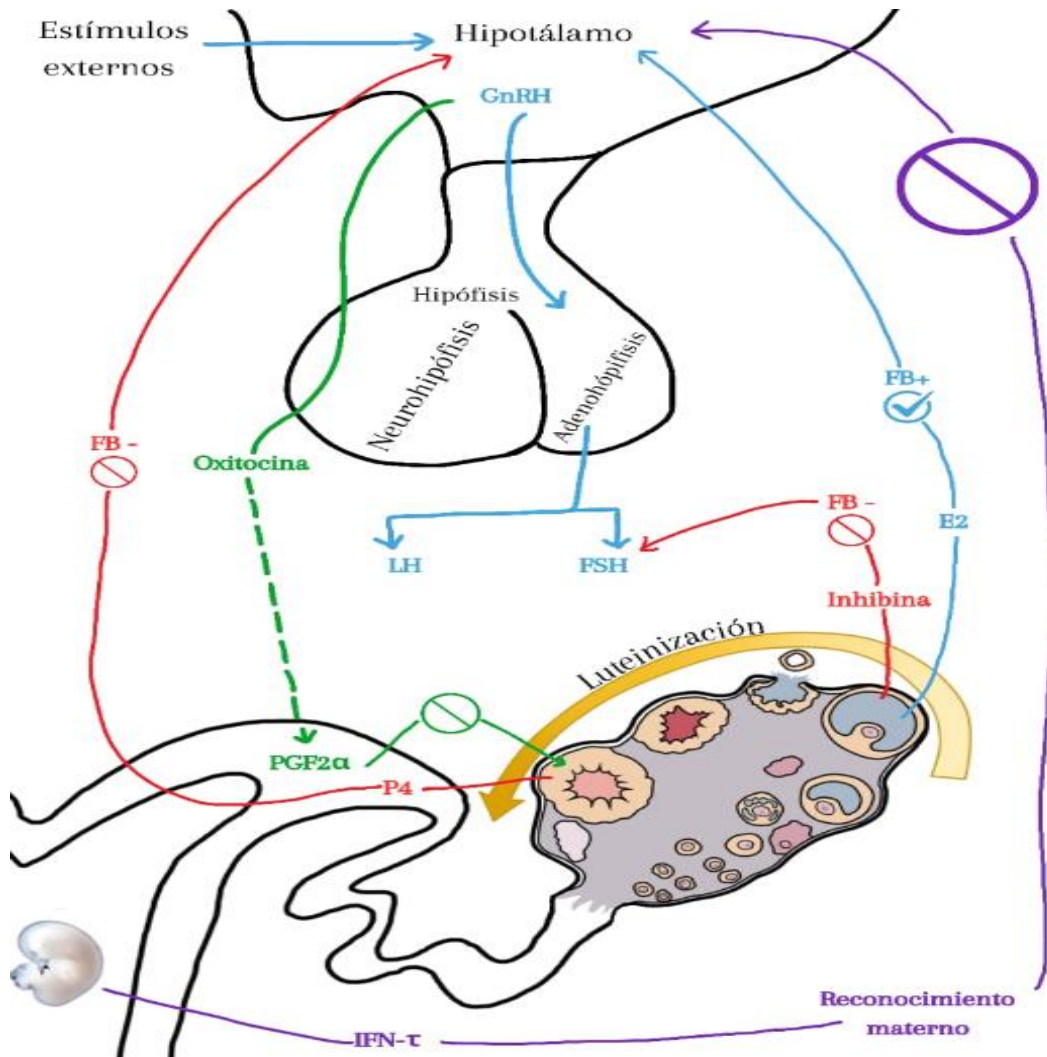


Figura 1. Eje hipotálamo hipófisis gónadas, (FB-) feedback negativo, (FB+) feedback positivo, fuente: elaboración propia.

2.5. Folículos ováricos

Están localizados en las gónadas femeninas desde el nacimiento de la hembra conteniendo un número finito de ovocitos potenciales, el folículo es una estructura pequeña de morfología esférica, compuesto por una membrana semitransparente llena de líquido (Gutierrez et al., 2009; NCI, 2011).

2.5.1. Endocrinología Folicular

En la hembra madura diferentes eventos endocrinológicos suceden durante la fase folicular y están regulados por el hipotálamo, órgano endocrino localizado en el encéfalo, una de las funciones reproductivas de este órgano es la secreción de la hormona liberadora de GnRH, neuro-hormona sintetizada en el núcleo arcuato y área preóptica de este órgano, cuya función es estimular la síntesis y liberación de las gonadotropinas LH y FSH en la hipófisis, glándula endocrina localizada en la base del cráneo. La FSH es la gonadotropina encargada del desarrollo de oleadas foliculares durante el ciclo estral; por su parte, la LH es la hormona encargada de la ovulación en su pico preovulatorio mediante la ruptura de la pared folicular, a través del incremento de la vascularización y la expansión del *cumulus* mediante la activación de genes específicos y la expresión de enzimas proteolíticas. (Padilla et al., 1998; Gutierrez et al., 2009; Atuesta & Gonella, 2011 y NCI, 2011). Las gonadotropinas también estimulan el aumento de la secreción de estradiol por el folículo dominante, mediante la unión de la LH a sus receptores localizados en las células de la teca se sintetizan los andrógenos a partir de colesterol, estos actúan sobre las células de la granulosa donde son aromatizados a estrógenos mediante la aromatasa, lo que genera el comportamiento de estro en la hembra (Hafez & Hafez, 2002; Atuesta & Gonella, 2011).

2.6. Foliculogenésis

Los ovocitos presentes en los ovarios son originados desde el blastocisto en el desarrollo embrionario por un número determinado de células germinales primordiales, dichos ovocitos en algún momento de la vida reproductiva serán ovulados o sufrirán atresia. En el ovario, estos ovocitos se encuentran detenidos en la profase I de la meiosis I y están rodeados por células escamosas de la pregranulosa, denominándose folículos primordiales. Durante la vida reproductiva de la oveja se presenta el crecimiento de grupos de folículos primordiales a este proceso se le denomina oleada folicular, y durante un ciclo estral normal pueden ser dos, tres o hasta cuatro, durante un ciclo de 17 días. Este evento consta de tres procesos denominados: reclutamiento, selección y dominancia folicular (Espinoza et al., 2007; Uribe et al., 2009; Bartlewski et al., 2011).

Cada oleada folicular implica el reclutamiento de un grupo de folículos primordiales que inician un proceso de crecimiento rápido bajo el estímulo de FSH; posteriormente, la selección y divergencia del folículo dominante del grupo se da al final de la fase, tiempo donde los folículos subordinados y, el ya dominante, crecen a tasas diferentes. La tasa de crecimiento es lo que define cual folículo será el dominante, una vez teniendo un mayor tamaño dejará de ser sensible a la FSH y obtendrá dependencia de la LH aumentando sus receptores a esta hormona. Simultáneamente, comienza la síntesis de la

inhibina que estimula la producción de andrógenos que a su vez se aromatizan en estrógenos, estos a su vez aumentan paulatinamente la concentración de inhibina, lo que disminuye los niveles de FSH, afectando el crecimiento de los folículos subordinados dependientes de ella. El folículo dominante continua su crecimiento hasta ser ovulado tras el pico preovulatorio de LH (Henao & Trujillo, 2000; Espinoza et al., 2007).

2.6.1. Regulación genética de la foliculogénesis

Además de la regulación endocrina clásica de los acontecimientos ováricos, existe una compleja regulación genética local de los procesos de selección, diferenciación folicular y ovulación en las hembras, dicha regulación depende de la expresión de genes que codifican proteínas y receptores durante el desarrollo de dichos procesos (Carvajal et al., 2020; Morales et al., 2022).

El genotipo es la parte del ADN transmitido a un organismo por sus progenitores y determina al fenotipo que según los estudios de Mendel está dado por genes únicos, cada uno de los cuales tiene 2 alelos alternativos, 1 completamente dominante y 1 completamente recesivo por lo que al cruzar dos líneas puras es posible obtener las características fenotípicas del gen completamente dominante, sin embargo al cruzar estos híbridos se puede obtener $\frac{1}{4}$ homocigoto dominante con características fenotípicas del gen dominante, $\frac{2}{4}$ de heterocigotos dominantes con características fenotípicas propias del alelo dominante, sin embargo se verá expresado $\frac{1}{4}$ homocigotos recesivos con características fenotípicas del alelo recesivo, estos métodos de entender la herencia genética se complican por fenómenos como la codominancia, dominancia incompleta, genes ligados al sexo y algunos otros que llegaron a llamarse epistasis, expresividad, penetrancia y en menor medida por mutaciones (Strome et al., 2024).

Entre los genes reguladores asociados a procesos ováricos de impacto sobre la prolificidad destacan aquellos cuyo efecto se ha asociado al aumento en la sensibilidad de los folículos a la acción de FSH, tal es el caso del gen recesivo Lacaune (FecL) localizado en cromosoma 11 de la oveja Lacaune Francesa (Galloway et al., 2000 Bodin et al., 2007). Otros mecanismos genéticos de importancia folicular por los cuales se incrementa la tasa de prolificidad están asociados a los receptores de ciertas hormonas de impacto reproductivo, tal es el caso de los estrógenos; el receptor de estrógenos (ESR) es un gen implicado en la prolificidad en varias especies, localizado en el cromosoma 17 de la oveja en la cual una mutación se asocia con este parámetro en la raza Small Tail Han, sin embargo no se ha encontrado diferencia en otras razas evaluadas (Bi et al., 2005). También el gen del receptor de prolactina (PRLR), ubicado en el cromosoma 16 de la oveja, que media la síntesis de prolactina está asociado en ovejas Small Tail Han con una mayor prolificidad (Jenkins et al., 2000). El gen de las inhibinas, subunidades α y β (INHA y INHB) localizado en el cromosoma 2 de la oveja también está

implicado aumento de 0.58 corderos en ovejas de la raza Hu, polimorfismos asociados a este gen interfieren con la inhibina hormona encargada de suprimir la FSH (Palomera & Morales, 2014).

El aumento en la concentración de la hormona FSH es otro mecanismo por el cual algunos genes actúan para incrementar la tasa ovulatoria como lo es el gen Booroola (*FecB*) que ejerce un efecto aditivo en ovinos de la raza Merino aumentando hasta 1.5 corderos por parto en homocigotas, teniendo una maduración temprana de un mayor número de folículos (McNatty et al., 2005). El gen del factor de crecimiento (GDF9 o *FecG*), localizado en el cromosoma 5 de la oveja, se asocia fisiológicamente al crecimiento folicular al influenciar la función de las células de la granulosa, en hembras heterocigotas la prolificidad es de 2 en razas evaluadas y hembras homocigotas no ovulan (Barzegari et al., 2009). Y por último el gen *BMP15* (proteína 15 morfogénica ósea) localizado en el cromosoma X, cuyos cambios en la secuencia de sus nucleótidos se asocian al aumento de al menos 1.0 la prolificidad de la oveja bajo el mismo mecanismo (Galloway et al., 2002).

2.7. Gen de la proteína BMP15

Un gen es la unidad funcional de la herencia. Cada gen es una secuencia dentro del genoma que funciona dando lugar a un determinado producto, que puede ser un polipéptido o un ARN (Krebs et al., 2018).

El gen *BMP15* que codifica para la proteína 15 morfogénica ósea, es uno de los primeros genes descritos que tiene una fuerte asociación con la tasa ovulatoria en ovinos Romney (McNatty et al., 2005). Cuenta con una longitud de 1182 pares de bases (pb) de su región codificante de ARNm (Argüello et al., 2014; Palomera & Morales, 2014). El gen completo tiene una longitud de 6682 pb dividido en el exón 1 que tiene una medida 325 pb, un intrón intermedio no codificante de 5305 pb y el exón 2 con 1052 pb (Di et al., 2021).

2.8. Función de la proteína BMP15 sobre el folículo

La proteína morfogénica ósea 15 actúa como un factor de crecimiento en el ovocito y está involucrada en diversos procesos ováricos mediante eventos paracrin, actuando sobre la regulación de la fertilidad en los mamíferos (Li et al., 2009; Pulkki et al., 2011). La proteína BMP15 regula la proliferación de las células de la granulosa, promoviendo su mitosis, es también capaz de inhibir la acción de la FSH sobre el folículo mediante la supresión de su receptor; estos procesos dependen de la interacción de la proteína con su receptor llamado receptor de proteína morfogénica ósea tipo IB (BMPRIIB) también llamado Activin-like kinasa (ALK6) o Booroola (*FecB*, Otsuka et al., 2001; Moore et al., 2003). BMP15 funge como señalizadores primarios que comienzan su actividad al unirse

a un receptor de tipo II (BMPRII), este a su vez fosforila el dominio quinasa de BMPRI, este activa la señalización intracelular de las proteínas Smad, los complejos Smad activados a través la fosforilación transmiten señales al núcleo de la célula de la granulosa, al interactuar con los cofactores nucleares regulan la transcripción de ciertos genes diana (Figura 2) como son los genes relacionados con la expansión del cumulo (*Ptx3*, *Has2*, *Tnfaip6* y *Ptgs2*), genes antagonistas de *BMP* (*Grem1* y *Fst*), genes Smad inhibidores (*Smad6* y *Smad7*) y los genes de la activina e inhibina, esto propuesto en estudios *in vitro* con células humanas (Shi & Massague, 2003; Li et al., 2009; Moraes et al., 2022 Fountas et al., 2024). La BMP15 secretada por el ovocito actúa de manera sinérgica con la proteína GDF9, estas ejercen su efecto sobre las células del cumulo, la granulosa y la teca mediante mecanismos paracrin, a estas se les atribuyen la regulación del desarrollo folicular, la función del cumulo, la maduración de ovocito, la producción de hormonas esteroideas, la expresión de los receptores a gonadotropinas (FSH) y la determinación de la tasa de ovulación, lo que culmina con un impacto sobre el tamaño de la camada (Gilchrist et al., 2008).

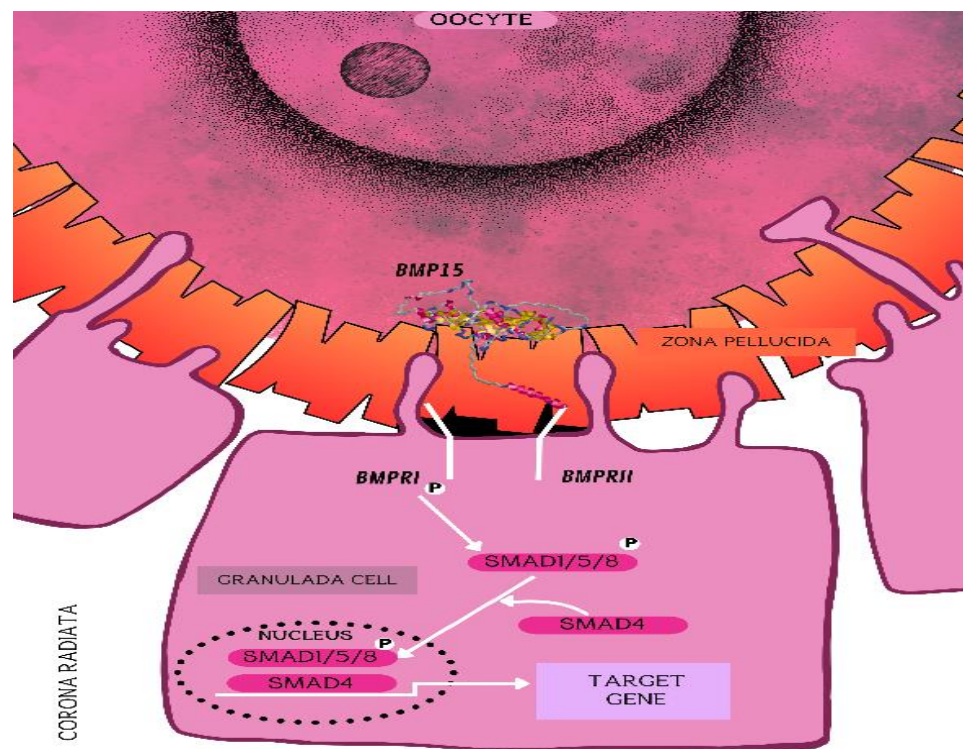


Figura 2. Aproximación de la vía de señalización de la proteína BMP15 sobre la célula de la granulosa en el folículo. La proteína BMP15 se une a su receptor BMPRII de una célula de la granulosa, iniciando la señalización intracelular de las proteínas Smad, (p) fosforilación, modificado de Gilchrist et al. (2008).

2.9. Mutaciones del gen *BMP15* y su efecto

Se han identificado mutaciones en el gen que codifica para la proteína BMP15 asociadas a fenotipos de esterilidad o aumento en la tasa ovulatoria en ovejas, aumentando el número de corderos nacidos, sin embargo, las distintas mutaciones y su función específica es aún debatida en la literatura (Moraes et al., 2023).

El exón II del gen *BMP15*, presenta 6 polimorfismos o mutaciones ya estudiadas (*FecX^I*, *FecX^H*, *FecX^G*, *FecX^B*, *FecX^L* y *FecX^R*), que en ovejas heterocigotas se ha reportado una tasa muy alta de prolificidad comparada con ovejas del genotipo silvestre (Carvajal et al., 2020).

El polimorfismo Inverdable (*FecX^I*) consiste en la transversión de una T por una A en el nucleótido 92 del gen, sustituyendo una valina por un ácido aspártico, a su vez este cambio interfiere con la función natural de BMP15 en ovejas homocigotas, aumentando 1.0 la tasa de ovulación (Galloway et al., 2002). por su parte el polimorfismo Hanna (*FecX^H*) tiene lugar tras una transición de una C por una T en el nucleótido 67, región que codifica el péptido maduro, que induce un codón de paro prematuro lo que resulta en la pérdida de la función de BMP15 en homocigotos impactando en por lo menos 1.0 el aumento de la tasa ovulatoria de la oveja (Montgomery et al., 2001), el polimorfismo Belclare (*FecX^B*), incrementa un 0.7 la tasa de ovulación, implica una transición de una G por una T en el nucleótido 1100 sustituyendo una serina por una isoleucina (Fabre et al., 2006), el polimorfismo Galway (*FecX^G*) consta de una transición de una C por una T en el nucleótido 718, introduciendo un codón de paro prematuro para el aminoácido 239 de la proteína aun no procesada, causando la pérdida de la función de la BMP15, aumentando 1a la tasa de ovulación (Galloway et al., 2002 y Fabre et al., 2006), por otro lado el polimorfismo Lacaune (*FecX^L*) implica el cambio de un aminoácido cisteína por una isoleucina alterando el procesamiento de BMP15 aumentando de 1.5 a 2 la tasa de ovulación (Bodin et al., 2007) y por último el polimorfismo Roa (*FecX^R*) que consta de una delección de 17 pb, lo que altera la secuencia de aminoácidos al introducir un codón de paro prematuro (Monteagudo et al., 2009), aumentando 0.6 ovulaciones y 2.66 corderos por parto en hembras Aragonesas heterocigotas y causando esterilidad en el genotipo homocigoto (Lahoz et al., 2011).

Estudios recientes revelan la presencia de nuevas mutaciones tales como la *FecX^N* en el exón 1 y la T755 del exón 2 del gen *BMP15* ambas altamente relacionadas con el tamaño de camada en ovejas Europeas y Asiáticas (Amini et al., 2018; Niu et al., 2021; Chantepie et al., 2020), la *FecX^{GR}* y la *FecX^O* en ovejas Olkaska y Grivette en Polonia y la mutación 28-30 de ovejas Luzhong en China (Smolucha et al., 2020; Niu et al., 2021). Además de otras mutaciones de las cuales se tiene reporte, pero no se ha definido asociación con la prolificidad, como lo son las mutaciones *FecX^{RA}* y *FecX^{Bar}* (Lassoued et al., 2017; Calvo et al., 2020).

Tabla 1. Mutaciones reportadas del gen de la proteína BMP15.

Variante BMP-15	País de reporte	Raza en las que se reporta	Exón	Mutación	Efecto traduccional	Autores que reportan
<i>FecX^I</i>	Nueva Zelanda	Romney, Belclaire e Inverdale	Exón 2	p.896 T>A	P. 299 Val > Asp	(Galloway et al. 2000; Niu et al., 2021)
<i>FecX^H</i>	Nueva Zelanda y México	Pelibuey, Romney, Belclaire y Hanna	Exón 2	p.871 C>T	P. 291 Gln > Stop	(Galloway et al. 2000; Argüello et al., 2014)
<i>FecX^B</i>	Irlanda, Grecia, e Inglaterra	Belclaire, Chios	Exón 2	p.1100 G>T	P. 367 Ser > Ile	(Hanrahan et al., 2004; Liandris et al., 2012; Niu et al., 2021)
<i>FecX^G</i>	Irlanda, China, Irán, Inglaterra y México	Pelibuey, Cambbrige, Galway, Han, Hu y Chios	Exón 2	p.718 C>T	P. 239 Gln > Stop	(Chu et al 2007 Argüello et al ., 2014; Wang et al., 2015)
<i>FecX^L</i>	Francia y México	Pelibuey y Lacaune	Exón 2	P.962 G>A	P. 321 Cys > Tyr	(Bodin et al., 2007; Argüello et al., 2014)
<i>FecX^R</i>	España	Aragonesa	Exón 2	P.525>541 delección	P. 208 delección	(Martinez-Royo et al., 2008; Monteagudo et al., 2009; La hoz et al., 2011)
C>T	Irán	Mixed breeds	Exón 2	P.-C>T	P. – Leu > Stop	(Barzegari et al., 2009; Javanmard et al., 2011)

<i>FecX^{GR}</i>	Francia	Grivette	Exón 2	P.950 C>T	P. 317 Thr > Ile	(Demars et al., 2013; Smolucha et al., 2020)
<i>FecX^O</i>	Polonia	Olkuskay	Exón 2	P.1009 A>C	P. 337 Asn > His	(Demars et al., 2013; Smolucha et al., 2020)
<i>FecX^{Bar}</i>	Túnez	Barbara Tunesina	Exón 1	P. 301 G>T, P. 302>304 delección y P. 310 inserción	P. 101 Ala > Cys, P. – Leu delección, P. 113 inserción Ter	(Lassoued et al., 2017)
T755	Irán y China	Shal, Ghezel, Afsari, Lori-Bakhtiari y Mongolia	Exón 2	P.755 T>C	P. 251 Leu > Pro	(Amini et al., 2018; Niu et al., 2021; Wang et al., 2023)
Del 31-33	China y Nueva Zelanda	Luzhong, Cele black, Finish landrace y ujimquin	Exón 1	P. 28>30 delección	P. 11 Leu delección	(Niu et al., 2021; Najafabadi et al., 2021; Wang et al., 2023; Ji et al., 2023)
T>C 782	China	Luzhong Mutton	Exón 2	P. 782 T>C	P. 252 Leu > Pro	(Di et al., 2021)
G>T 747	China	Luzhong Mutton	Exón 2	P. 747 G>T	P. 240 Gln > His	(Di et al., 2021)
Del 58-60	China	Luzhong Mutton	Exón 1	P.58-60 delección	P. – Leu delección	(Di et al., 2021)
G>A	Irán	Lori	Exón 2	P. 971 G>A	P. 322 Glu > Gln	(Zamani et al., 2015)
C>T	Egipto	Mixed breeds	Exón 2	P. 50971365*) C>T	P. – Leu > Pro	(El Halawany et al., 2018)
G>A	Irán	Mehraban y Lori	Exón 1	P.121 G>A	P. 41 Glu > Lys	(Nadri et al., 2016)
<i>FecX^{RA}</i>	-----	Aragonesa	Exón 2	P. 50970948* C>T	P. – Thr > Ile	(Calvo et al., 2020)

(P) Localización de la variante en el ARNm, (>) cambio de un nucleótido por otro o de un aminoácido por otro, (stop) induce un codón de paro, (*) la localización esta reportada en DNA genómico del cromosoma X de *Ovis aries* con número de acceso NC_056080.1.

Con los avances en la biología genómica es posible que a partir de muestras biológicas de las ovejas se obtenga material genético y mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) analizar la presencia de estas mutaciones en el gen *BMP15*, lo que permite genotipar e identificar a los animales que las portan (Palomera & Morales, 2014).

2.10. Técnicas de identificación de polimorfismos para el gen *BMP15*

Existen diversas metodologías de identificación de mutaciones en un gen, específicamente para el gen *BMP15* se han reportado al menos 8 técnicas diferentes, las cuales se describen a continuación (Demars et al., 2013; Niu et al., 2021; Wang et al., 2023).

2.10.1. Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLP)

Los RFLP desarrollados en los años 70 fueron considerados una revolución en el entendimiento del genoma y fue la técnica más popular para el análisis de variación genética durante los años 80, su fundamento está basado en las diferencias de longitud de los fragmentos del ADN, producto de la digestión de 1 o más enzimas (endonucleasas) de restricción visualizando en un gel de agarosa por electroforesis (Liu, 2007).

Las variaciones de una secuencia entre individuos dan como resultado esa diferencia en la longitud del fragmento de ADN producido a partir de la digestión de dichas enzimas, a esto se le conoce como región polimórfica para la enzima específica o RFLP. Anteriormente los RFLP solo eran eficientes en la detección de deleciones e inserciones de gran tamaño y no solían detectar la gran mayoría de mutaciones puntuales y pequeñas deleciones. Actualmente la principal limitación de la técnica RFLP es que para poder ser utilizada como herramienta para el estudio de cualquier gen se tiene que tener conocimiento del polimorfismo que se pretende buscar (Menon et al., 2021).

2.10.2. Secuenciación Sanger

Desde su desarrollo en 1977 la secuenciación de ADN permite determinar el orden de los nucleótidos (A, G, C, T) en una molécula. La mayoría de las técnicas de secuenciación a baja escala que se usan actualmente se basan en el método de síntesis enzimática conocido como método Sanger o de terminación de la cadena. El principio de este método es la incorporación selectiva de dideoxinucleótidos trifosfato (ddNTPs), estos nucleótidos carecen del OH en el extremo 3', por lo que si se incorporan durante la síntesis se impide la incorporación de un nuevo nucleótido y se termina la elongación de la cadena, de esta forma se generan fragmentos de distintos tamaños que terminan en todos los nucleótidos de la molécula de ADN, los cuales son separados por electroforesis para

determinar la secuencia a partir del ddNTP incorporado y el tamaño de los fragmentos. Las técnicas actuales utilizan dideoxinucleótidos marcados con fluorocromos, para la identificación de los fragmentos. Se emplean ADN polimerasas termoestables que permiten hacer la reacción de secuencia por termo-ciclaje. Este tipo de secuenciación tiene alta eficiencia, es muy precisa y reproducible, sin embargo, solo es útil en proyectos de secuenciación a baja escala que involucran un número reducido de fragmentos (Ongay et al., 2021).

2.10. 3. Heteroduplex

Es un método molecular de los años 80 que se utiliza para detectar variaciones en las secuencias de ADN. La técnica del heterodúplex se basa en la formación de moléculas de “ADN heterodúplex”, creadas mediante la hibridación de dos cadenas de ADN complementarias con bases idénticas. Se inicia con la amplificación de ADN diana mediante la PCR, posteriormente el producto de PCR se desnaturaliza y se rehibrida, lo que permite que las cadenas se recombinen, las bases no coincidentes forman moléculas de ADN heterodúplex. Por último, estas moléculas son separadas en un gel de electroforesis capilar donde pueden ser observadas en base a su peso molecular. En general es una técnica rentable con alta sensibilidad y especificidad en la detección de variaciones del ADN (Velasco et al., 2007).

2.10.4. Polimorfismo de conformación de cadena simple (SSCP)

La técnica desarrollada a principios de la década de los 90 se basa en el principio del tamaño y estructura de la molécula de ADN monocatenario por lo que tiene diferente movilidad en la electroforesis en un gel no desnaturalizante. El ADN monocatenario forma estructuras de conformación secundarias y terciarias dado el emparejamiento de bases entre nucleótidos en la cadena primaria individual, dichas conformaciones dependen de la longitud, ubicación y número de regiones de apareamiento y de la secuencia de la hebra de ADN, por lo que un cambio de nucleótidos en la conformación de la secuencia primaria altera la conformación de la molécula la eficiencia en la detección de mutaciones por este método va desde un 50% a un 100% , la técnica es relativamente simple desde el punto de vista técnico y se puede utilizar de manera eficiente en la detección de mutaciones de cientos de muestras por día (Gasser et al., 2006).

2.10.5. Sistema de mutación refractario a la amplificación por PCR (ARMS-PCR)

Esta técnica de genotipificación molecular tiene como fundamento el empleo de dos pares de iniciadores para amplificar los dos alelos diferentes (alelo diana) de un polimorfismo de un solo nucleótido dentro de una reacción de PCR. Básicamente se inician dos reacciones específicas de los

alelos en direcciones opuestas con dos iniciadores externos que amplifican la región del polimorfismo y dos iniciadores internos para el alelo, los iniciadores externos son modificados con un desajuste en la última base de la región 3' y otro en la posición-2 de la misma región. El método suele ser económico y rápido y se ha utilizado principalmente en el diagnóstico clínico de enfermedades hereditarias, en ciencias forenses y otras disciplinas en donde los resultados precisos son esenciales (Wang et al., 2014).

2.10.6. Micro-arreglos

Desde finales de la década de los 90, los micro-arreglos son una herramienta útil en la detección de mutaciones simultáneamente, la técnica se basa en la hibridación de muestras de ADN o ARN con las secuencias de ácidos nucleicos con la mutación conocida, el proceso se lleva a cabo en un chip que contiene dichas secuencias conocidas. Los micro-arreglos detectan mutaciones al identificar diferencias en los patrones de hibridación entre las muestras (diana) y la referencia (sonda). Las muestras deben ser etiquetadas con diferentes colorantes fluorescentes el cual será útil para el análisis cuantitativo de intensidad de la reacción después de la hibridación. Los patrones de hibridación se comparan para identificar las mutaciones. El método tiene la bondad de poder hacer análisis en paralelo y de alto rendimiento de múltiples mutaciones y genes, es altamente sensible y específica, sin embargo, para poder utilizarlo se debe conocer la secuencia mutada objetivo (Wang & Li, 2011; Ribate & Ramos, 2008).

2.10.7. El análisis de las curvas de fusión (HRM)

Es un método simple desarrollado en 2003 para detectar mutaciones de la secuencia de ADN. La técnica se fundamenta en los cambios que surgen cuando se separa el ADN de doble cadena, al romper por calor los puentes de hidrógeno que las unen, esta disociación de las hebras depende de factores como la longitud, concentración de guaninas y citosinas y su propia composición, lo que permite distinguir entre moléculas con diferentes secuencias. El procedimiento inicia con la amplificación del ADN diana por PCR, posteriormente se eleva la temperatura a 95 °C para desnaturalizar, durante esta fase, la fusión es controlada mediante fluorocromos intercalantes, estos emiten luz al unirse con el ADN de doble cadena y se apagan al separarse las hebras, el equipo registra esos datos generando las curvas para el análisis de fusión de alta resolución (HRM), la cual permite detectar variaciones entre secuencias de una sola base (Garritano et al., 2009 y Jiménez et al., 2020).

2.10.8. Secuenciación de nueva generación

La secuenciación de nueva generación ha transformado a la investigación genética, desde 2005 es posible a través de esta tecnología analizar cientos de genes en cantidades masivas a una velocidad sin precedentes y a un precio más bajo que la secuenciación Sanger convencional, el proceso de la secuenciación de nueva generación se basa en la creación de la biblioteca genómica que es el total de ADN genómico de un organismo, mediante la secuenciación del ADN en donde se secuencian millones de fragmentos de ADN en paralelo para por ultimo ser analizados mediante herramientas bioinformáticas, actualmente esta tecnología se ha estado implementado en la identificación de variantes génicas en oncología, en donde es posible identificar las variantes genéticas, así como reconstruye los haplotipos, lo que permite el estudio de la variación genética y la asociación con los rasgos (Pereira et al., 2020; Giardina et al., 2018).

3. JUSTIFICACIÓN

El tamaño de la camada es un parámetro reproductivo que en el ganado ovino impacta en el crecimiento productivo de los rebaños (Rodríguez et al., 2002; Di et al., 2021). Esta característica está regulada por distintas variables ambientales y genéticas, tales como algunas mutaciones del gen *BMP15*, las cuales han demostrado asociación con una mayor tasa de ovulación en las ovejas. La identificación de mutaciones por secuenciación resulta ser una técnica precisa y eficiente en proyectos genómicos de pequeña escala (Ongay et al., 2021).

No existen disponibles reportes de estudios genéticos que evalúen la presencia y asociación que entre las mutaciones de este gen y la prolificidad de las ovejas Katahdin.

El identificar la presencia de las mutaciones del gen *BMP15* mediante secuenciación y el grado de asociación con la prolificidad en la raza Katahdin, puede abrir un camino para futuras investigaciones que conlleven a mejorar la productividad en los rebaños ovinos, cuyo sector sufre un decremento constante, siendo agravado tras los estragos de la COVID-19 lo que condujo a un desabasto de este producto (SIAP, 2022; IICA, 2022).

4. HIPÓTESIS

Existen mutaciones en alguno de los exónes del gen *BMP15* y están asociadas con la prolificidad de ovejas Katahdin prolíficas.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

- Identificar mediante técnicas moleculares las mutaciones en los exones I y II del gen *BMP15* y evaluar su asociación con la prolificidad de ovejas Katahdin multíparas.

5.2. Objetivos específicos

- Evaluar la prolificidad de las ovejas candidatas, mediante los registros productivos, para obtener el número de corderos nacidos por oveja por parto.
- Analizar los genomas disponibles y reportes de mutaciones en el gen *BMP15* en distintas razas de ovejas del mundo mediante una revisión sistemática de literatura para establecer el grado de conservación de este gen en las poblaciones ovinas.
- Detectar los exones I y II del gen *BMP15*, mediante PCR punto final, para ser secuenciadas por el método Sanger.
- Analizar las secuencias de los exones I y II del gen *BMP15*, mediante software bioinformáticos, para obtener secuencias consenso e identificar mutaciones.
- Identificar los efectos post traduccionales de las mutaciones del gen *BMP15*, mediante simulación *insilico*.
- Establecer un modelo tridimensional predictivo de la proteína mutante, mediante un análisis de mayor similitud en software, para determinar su efecto biológico.
- Analizar, mediante una prueba de independencia el grado de asociación de las mutaciones con la prolificidad de las ovejas Katahdin.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Animales y toma de muestras sanguíneas

El número de unidades experimentales se determinó a priori mediante el software G. Power (Faul et al., 2007) para pruebas de independencia, con una potencia del 95% y un tamaño del efecto de 0.68 obtenido de los datos reportados por Najafabadi et al. (2021) quienes analizaron la región codificante del gen *BMP15* en ovejas asiáticas, determinando un mínimo de 37 ovejas (Figura 3).

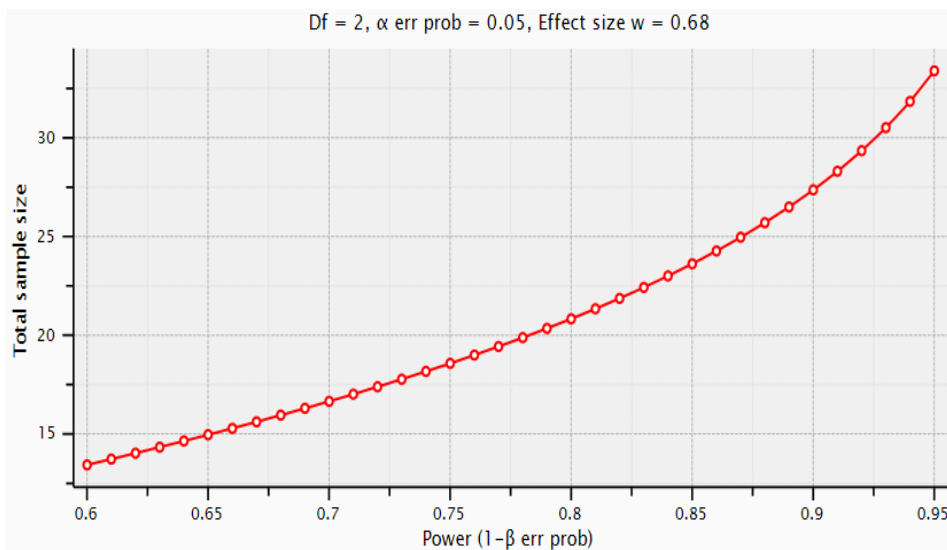


Figura 3. Determinación del tamaño de la muestra en el software Gpower.

Las muestras de sangre de los animales fueron colectadas mediante punción de vena yugular con equipo vacutainer en tubos con EDTA de 3.5 ml. Los criterios de inclusión para las ovejas fueron registros estrictos de parámetros reproductivos como prolificidad en por lo menos dos partos, partos por año, repetición de estros y estar clínicamente sanas a la toma de la muestra sanguínea, además de las ovejas Katahdin incluidas en el estudio se incluyeron dos controles externos (un macho de la raza Katahdin y una hembra de la raza Dorper).

El material biológico fue obtenido de la unidad de producción “Ovinos SK”, localizada geográficamente en el municipio de Acatlán Hidalgo, México, ubicada entre los 20°07’04.1’’ latitud norte y los 98°26’26.6’’ longitud oeste y una altitud de 2178 msnm según Google Earth (<https://earth.google.com/web>).

Todos los procedimientos hechos en animales fueron sometidos a evaluación por el comité institucional ético para el cuidado y uso de los animales de laboratorio (CICUAL) de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo y aprobado con el código CICUAL-V-I/04/2024.

6.2. Pruebas *in silico* de iniciadores

Se realizó una búsqueda sistematizada a través de los motores de búsqueda Springer (<https://link.springer.com/>), Science Direct (<https://www.sciencedirect.com/>), Wiley (<https://onlinelibrary.wiley.com/>) y PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>), mediante las palabras clave: litter size, prolificacy, sheep, ovis aries, bone morphogenic protein 15, *BMP15* gene, mutation, single nucleotide polymorphism, *FecXI* y *FecXH*. Se seleccionaron trabajos que hayan amplificado los exones I y II del gen *BMP15* en ovejas, los iniciadores propuestos por sus autores fueron probados *in silico* mediante el software primer-BLAST del NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/index.cgi?GROUP_TARGET=on)

Iniciadores para secuenciación de exones según Niu et al. (2021)

Exón 1: Forward: TTTCATTTTTCCTTGCCCTATCC 550pb

Reverse: CCTGACAGAAACTGACAGATCC

Exón 2: Forward: TTCTCTGAGCTTCAGTTTCCTCG 1116pb

Reverse: TGCACCTTTGCCGTCACCTGCAT

Iniciadores para secuenciación de exones según Argüello et al. (2014).

Exón 1: Forward: CATGCTGCCTTGTCCCAC 325pb

Reverse: AGGCAATGTGAAGCCTGACA

Exón2: Forward: CAG TTT GTA CTG AGC AGG TC 857pb

Reverse: TTC TTG GGA AAC CTG AGC TAG C

Iniciadores para secuenciación de exones según Amini et al. (2018).

Exón 1: Forward 1: TCCTTGCCCTATCCTTTGTG 482pb

Reverse 1: CCCTCCCACCAGAACAATA

Exón2: Forward 1: GAAGCTAACGCTTTGCTCTTG 468pb

Reverse 1: GCCTTTAGGGAGAGGTTTTGG

Forward 2: GGCATTTCATCATTGGACAC 539pb

Reverse 2: CTGAGCTAGCTGCACCTTTG

Iniciadores para secuenciación de exones según Wang et al. (2023).

Exón 1: Forward: CCCACCTGCTGTTTCTGTTT 1066pb

Reverse: AGCCTTTCAGGACAGCTAAGG

Exón2: Forward: ATTTTGTGGCATCTCCAACC 1687pb

Reverse: AAAATGAAGCAGTAATGAGA

Iniciadores para secuenciación de exones según Di et al. (2021).

Exón 1: Forward: CTGCCTGCCAGCCTTTCAT 718pb

Reverse: ACATCAATGAGTTGCCCTG

Exón2: Forward: TGTATTTGAGGTGTTTTTCTCCG 1381pb

Reverse: AAGTACAATGCTGAAGGCAAGG

Iniciadores para secuenciación de exones según Najafabadi et al. (2021).

Exón 1: Forward: CCTTGCCCTATCCTTTGTG 477pb

Reverse: CCTCCCACCAGAACATA

Exón2: Forward: GCAGGCAGTATTGCATCGGAAG 310pb

Reverse: CCTCAATCAGAAGGATGCTAATGG

6.3. Análisis de genomas ovinos disponibles *insilico*

Con el fin de conocer el grado de conservación del gen en la especie se realizó un análisis de similitud del gen *BMP15* entre diferentes razas de ovejas a través de una alineación del cromosoma X de los diferentes genomas disponibles en Gen Bank de las diferentes razas de ovinos secuenciados, la alineación y análisis se realizó mediante el software Genius PRAIM 2024.1

6.4. Extracción de DNA y amplificación por PCR

Para la extracción de ADN genómico a partir de sangre completa se utilizó el kit comercial Wizard® Genomic DNA Purification kit (#A1125, Promega) bajo las especificaciones del fabricante, el ADN genómico fue evaluado mediante espectrofotometría con equipo NanoDrop bajo los parámetros de calidad de absorbancia 230/260 y 260/280. El exón I y el exón II del gen *BMP15* fueron amplificados mediante la (PCR) con el uso de los iniciadores propuestos por Amini et al. (2018) y Niu et al. (2021; Tabla 2). La PCR punto final con los iniciadores de Amini et al. (2018) se realizó en volumen final de 50 µL mediante el kit comercial GoTaq® Flexi DNA Polymerase (# M8291 Promega) con las especificaciones del fabricante, en la reacción de PCR se utilizó 10 µL de regulador de PCR 10× (KCl 50 mM, Tris-HCl 75 mM (pH 9,0)), MgCl₂ 2.5 mM, 1 µL de mezcla 10 mM de dNTP, 0.25 µL de ADN polimerasa Taq (5 U/ µL) (GoTaq® Flexi DNA Polymerase, Promega), 1 µL a 10 µM de cada iniciador y 100 ng de ADN genómico, durante 35 ciclos bajo las condiciones descritas en el Tabla 2. Para la PCR touchdown con los iniciadores propuestos por Niu et al. (2021) se utilizó 10 µL de

regulador de PCR 10× (KCl 50 mM, Tris-HCl 75 mM (pH 9,0)), MgCl₂ 1.5 mM, 1 µL de mezcla 10 µM de dNTP, 0.25 µL de ADN polimerasa Taq (5 U/ µL) (GoTaq® Flexi DNA Polymerase, Promega), 1 µL a 10 µM de cada iniciador y 100 ng de ADN genómico, en un volumen final de 50 µL. Los amplicones de ambas reacciones fueron verificados en gel de agarosa al 1.5% (Invitrogen) incluyendo un control negativo (producto de PCR sin ADN) y dos controles externos positivos.

Tabla 2. Iniciadores y condiciones de la PCR utilizada para amplificar los exones I y II del gen *BMP15*.

Gen	Iniciadores 5' – 3'	MgCl (mM)	Alineación (°C/S)	Extención (°C/S)	Amplificado (pb)
A exón I	F: TCCTTGCCCTATCCTTTGTG	2.5	58.5/30	72/ 45	482
	R: CCCTCCCACCAGAACATA				
A exón II	F: GAAGCTAACGCTTTGCTCTTG		60/35	72/50	1007
	R: CTGAGCTAGCTGCACCTTTG				
N exón I	F: TTTCATTTTTCCTTGCCCTATCC	1.25	65/60 (-2 grados cada 2 ciclos en 12 ciclos. 51/60 (durante 21 ciclos mas)	72/90	550
	R: CCTGACAGAAACTGACAGATCC				1116
N exón II	F: TTCTCTGAGCTTCAGTTTCCTCG				
	R: TGCACCTTTGCCGTCACCTGCAT				
H exón I	F: ATCCTTAGAATCCTTCTT*	2.5	45.7/30	72/45	345
	R: CCCTCCCACCAGAACATA				

Iniciadores propuestos por Amini et al. (2018) (A), Iniciadores propuestos por Niu et al. (2021) (N), Iniciadores para determinar haplotipos (H) y Iniciador diseñado para amplificar el alelo silvestre en el presente estudio (*).

Para determinar las frecuencias genotípicas se diseñó un iniciador Forward cuyo extremo 3' incluyera el genotipo silvestre del gen *BMP15* y se amplificaron todos los individuos positivos a la mutación en una reacción de PCR con 10 µL de regulador de PCR 10× (KCl 50 mM, Tris-HCl 75 mM (pH 9,0)), MgCl₂ 2.5 mM, 1 µL de mezcla 10 mM de dNTP, 0.25 µL de ADN polimerasa Taq (5 U/ µL) (GoTaq® Flexi DNA Polymerase, Promega), 1 µL de 10 mM de cada iniciador y 100 Nm de ADN genómico, en un volumen final de 50 µL bajo las condiciones descritas en la Tabla 2. Los amplicones fueron observados a través de un gel de agarosa al 1.5% (Invitrogen), se incluyeron un control positivo (homocigoto silvestre) y un control negativo (hemocigoto mutante), los individuos homocigotos mutantes no fueron visibles a la electroforesis mientras que los individuos heterocigotos sí fueron amplificados.

6.5. Análisis bioinformático

Los amplicones de las reacciones de PCR de los exones I y II del gen *BMP15* fueron purificados mediante el kit comercial Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega) bajo las especificaciones del fabricante y enviados a la Unidad de Genómica Avanzada – Langebio Cinvestav para ser secuenciados por el método Sanger.

El análisis de las secuencias se realizó mediante el software MEGA 11 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis; Tamura et al., 2021) a través de la herramienta de alineación ClustalW, para la alineación se utilizó el ARNm de referencia de *ovis aries* con número de acceso NF_001114767.1.

6.6 Análisis y modelado de la proteína mutante

Para detectar el marco de lectura abierto se utilizó el software ORFfinder del NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>), con el fin de identificar el efecto de la variante sobre la estructura secundaria de la proteína, se realizó un modelo predictivo de la proteína BMP15 a partir de la referencia con mayor similitud mediante el software SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/interactive>) y mediante el software Ras Mol: Biomolecular graphics for all (Sayle & Milner-White, 1995) se estableció el modelo tridimensional.

6.7 Análisis estadísticos

El análisis estadístico de asociación se realizó a través de la prueba de independencia de F exacta de Fisher mediante una tabla de contingencia mediante el uso del software SAS® V9 (Institute Inc. (2020). SAS® 9.4 Statements: Reference. SAS Institute Inc.) para evaluar la prolificidad de las ovejas estas fueron categorizadas en dos grupos, ovejas altas prolíficas y ovejas bajas prolíficas, a partir de sus registros reproductivos, categorizadas mediante la mediana de tamaño de camada de la población.

El análisis de desequilibrio de los haplotipos se analizó mediante la prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg (Bacaër, 2011), para lo que se realizó el cálculo de las frecuencias genotípicas (p y q) donde p= alelo silvestre (+) y q= alelo mutante (B). El cálculo de las frecuencias genotípicas esperadas se realizó mediante las ecuaciones de Hardy-Weinberg, donde para el genotipo esperado (++) = $p^2 \times N$, para el genotipo esperado (B+) = $2pq \times N$ y para el genotipo esperado (BB) = $q^2 \times N$, donde (N) es el número total de individuos (42). La distribución de la frecuencia genotípica se analizó mediante una prueba de Chi-cuadrada mediante la fórmula $\chi^2 = \sum (O-E)^2/E$, donde O = frecuencias observadas y E = frecuencias esperadas.

7. RESULTADOS

7.1. Tamaño de muestra

Fueron seleccionados para analizar en el presente estudio un total de 42 ovejas de la raza Katahdin y dos controles externos. Se categorizaron 29 ovejas altas prolíficas (2.26 ± 0.33) y 13 ovejas bajas prolíficas (1.54 ± 0.26 ; Tabla 3).

7.2. Análisis de genomas disponibles

Se determinó la variabilidad genética que existe en tamaño del cromosoma X de las diferentes razas de ovejas disponibles en Gen Bank, así como la variación en la ubicación del gen *BMP15* dentro del cromosoma (Figura 4). Fue posible identificar la variabilidad genética que existe entre las distintas razas de ovejas en mundo, el tamaño de los cromosomas X varían de tamaño estos rangos van desde el más pequeño de 129,136,099 nucleótidos del genoma de referencia de la raza Rambouillet hasta los 155,236,602 de la raza Romney, la posición del gen *BMP15* dentro del cromosoma X de las diferentes razas también tiene variación, localizado en la posición 54,283,635 en la raza de referencia y ubicado aguas debajo de esta posición en la raza Hu y aguas arriba en el resto de las razas analizadas.

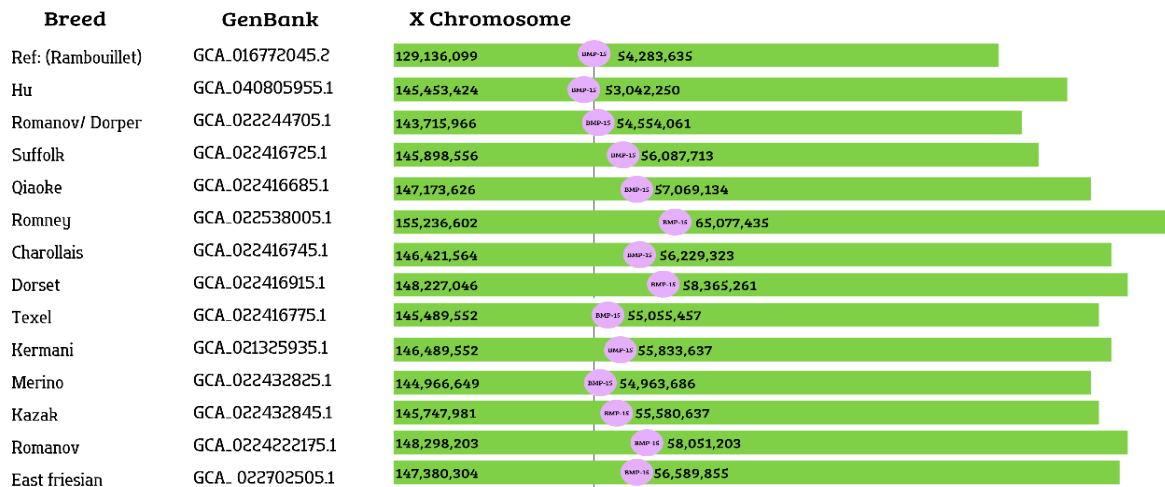


Figura 4. Alineación del cromosoma X de distintas ovejas disponibles

Se estimó una identidad el 99.9% del gen *BMP15* entre 15 razas de ovejas distintas disponibles, lo que sitúa a este gen como un gen conservado en la especie (Figura 5).

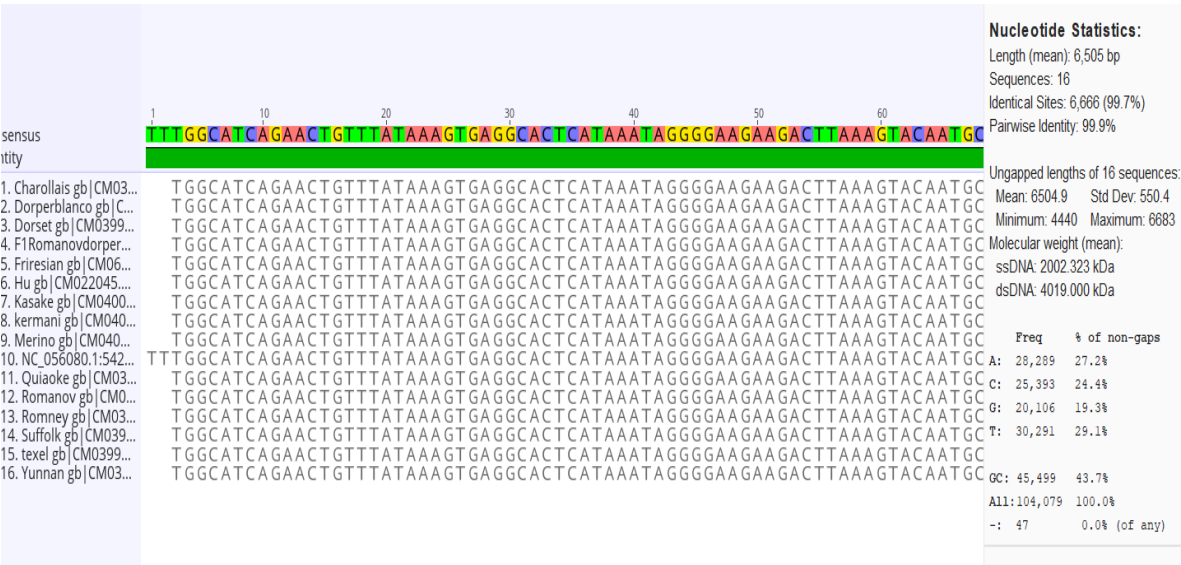


Figura 5. Análisis de identidad del gen *BMP15* entre distintas razas de ovejas.

Mediante la alineación de los genomas fue posible identificar la delección 31-33 del exón I en ovejas Rambouillet, Dorper blanco, F1 Romanov Dorper, Kermani, Hu y Romanov, así como el polimorfismo T755 del exón II en la raza Dorper blanco, también fue posible identificar 12 polimorfismos en la región intrónica de las diferentes razas evaluadas (Figura 6).

Nucleótidos	1	2	31	32	33	325	566	667	1648	2103	2244	2253	3126	3132	4182	5182	5183	5184	5193	5634	6064	6491
ARNm Ref	A	T	C	T	T	G															T	A
Rambouillet	A	T					C	C	C	C	G	T	A	A	C				C	G		
Charollais															T				T			
Dorperblanco																					C	
Dorset									T						T	T	T	A				
F1 RomanovDorper																						
Frisesian									T						T	T	T	A				
Kermani												C			T	T	T	A				
Hu										T					T	T	T	A				
Kasake									T						T	T	T	A				
Merino								A					G									
Quiaoke									T						T	T	T	A				
Romanov																						
Romney									T						T	T	T	A				
Suffolk															T				T			
Texel									T						T	T	T	A				
Yunnan									T						T	T	T	A				

Figura 6. Variantes identificadas en el gen *BMP15* de 17 razas de ovejas. En el color azul se representan los exones I y II, en el color naranja se representa el intrón, en la fila de nucleótidos se enumera la posición de la variante en el gen *BMP15*.

7.3. Secuencias del gen *BMP15* de ovejas Katahdin

Posterior a la amplificación de los exones I y II del gen *BMP15* de las 42 ovejas Katahdin y los 2 controles externos (Figura 7), fueron analizados los electroferogramas de las secuencias, los cuales mostraron un patrón de variación en la secuencia de la señal, fue posible identificar 3 patrones diferentes, en la primera se observa un patrón de dobles picos a partir de la variante localizada permitiendo un desfase en la secuencia de los alelos (heterocigoto mutante), en el segundo patrón se observó una secuencia limpia con la presencia de la variante (homocigoto mutante) y por último el genotipo silvestre (Figura 8), a través de la alineación tomando como referencia el ARNm *ovis aries* (NM_001114767.1) fue posible identificar una delección de 3 nucleótidos en la posición 31-33 del exón I en 34 ovejas (Figura 10), en el exón II de ovejas Katahdin no se encontró ninguna variante. En uno de los controles externos que pertenece a una oveja de partos gemelares de la raza Dorper Se identificó el polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) ya conocido T755 en el exón 2 (Figura 9).

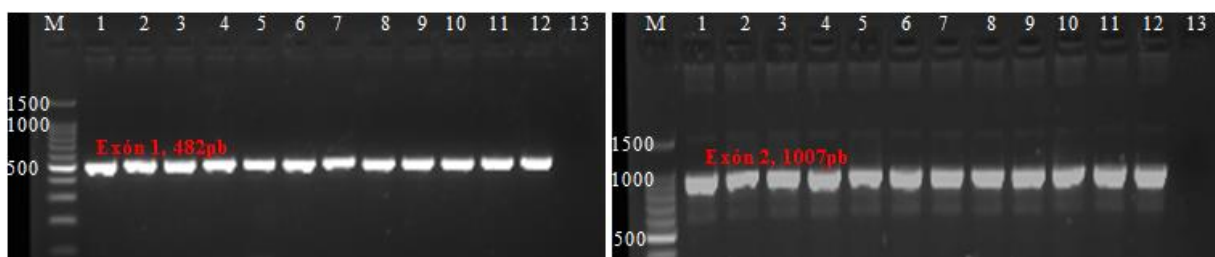


Figura 7. Amplificado de los exones I y II del gen *BMP15* de ovejas Katahdin amplificados por PCR punto final y visualizados en electroforesis en gel de agarosa. (M) Marcador de peso molecular de 1500 pb, (1) control externo oveja de la raza Dorper, (2) control externo carnero de la raza Katahdin, (3-12) amplificados de ovejas Katahdin y (13) control negativo.

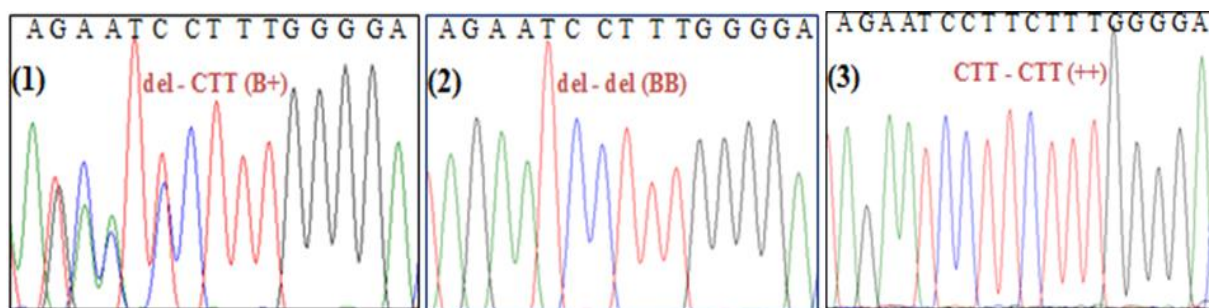


Figura 8. Resultados de las secuencias de ovejas Katahdin, (1) heterocigoto, (2) homocigoto mutante y (3) homocigoto silvestre.

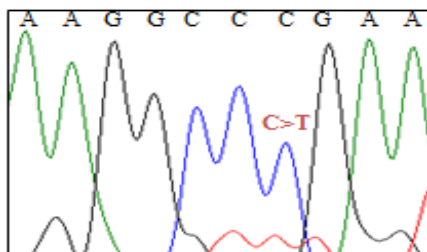


Figura 9. SNP T755 del exón II de un control externo de raza Dorper.

	*****	31-33	*****
NM 001114767.1	A T C C T T A G A A T C C T T C T T	T G G G G A C T G G T G C T T T T T A T G G A A C A T A G G	
E1-B1B7-B2	A T C C T T A G A A T C C T T - - -	T G G G G A C T G G T G C T T T T T A T G G A A C A T A G G	
E1-A1A7-B1	A T C C T T A G A A T C C T T - - -	T G G G G A C T G G T G C T T T T T A T G G A A C A T A G G	
E1-C1C7-B3	A T C C T T A G A A T C C T T - - -	T G G G G A C T G G T G C T T T T T A T G G A A C A T A G G	
E1-D1D7-B4	A T C C T T A G A A T C C T T - - -	T G G G G A C T G G T G C T T T T T A T G G A A C A T A G G	
E1-E1E7-B5	A T C C T T A G A A T C C T T - - -	T G G G G A C T G G T G C T T T T T A T G G A A C A T A G G	
E1-F1F7-B6	A T C C T T A G A A T C C T T - - -	T G G G G A C T G G T G C T T T T T A T G G A A C A T A G G	
E1-G1G2-B7	A T C C T T A G A A T C C T T - - -	T G G G G A C T G G T G C T T T T T A T G G A A C A T A G G	
E1-H1H7-B8	A T C C T T A G A A T C C T T - - -	T G G G G A C T G G T G C T T T T T A T G G A A C A T A G G	
E1-A2A8-B9	A T C C T T A G A A T C C T T C T T	T G G G G A C T G G T G C T T T T T A T G G A A C A T A G G	
E1-B2B8-B10	A T C C T T A G A A T C C T T - - -	T G G G G A C T G G T G C T T T T T A T G G A A C A T A G G	
E1-C2C8-B11	A T C C T T A G A A T C C T T - - -	T G G G G A C T G G T G C T T T T T A T G G A A C A T A G G	
E1-D2D8-B12	A T C C T T A G A A T C C T T C T T	T G G G G A C T G G T G C T T T T T A T G G A A C A T A G G	
E1-E2E8-B13	A T C C T T A G A A T C C T T - - -	T G G G G A C T G G T G C T T T T T A T G G A A C A T A G G	
E1-F2F8-B14	A T C C T T A G A A T C C T T - - -	T G G G G A C T G G T G C T T T T T A T G G A A C A T A G G	
E1-G2G8-B15	A T C C T T A G A A T C C T T C T T	T G G G G A C T G G T G C T T T T T A T G G A A C A T A G G	
E1-H2H8-B16	A T C C T T A G A A T C C T T - - -	T G G G G A C T G G T G C T T T T T A T G G A A C A T A G G	
E1-A3A9-B17	A T C C T T A G A A T C C T T C T T	T G G G G A C T G G T G C T T T T T A T G G A A C A T A G G	

Figura 10. Resultados de la alineación del exón I comparado con el ARNm de referencia, en el recuadro rojo se muestra la variante 31-33.

7.4. Frecuencias genotípicas y alélicas

Se identificaron de manera precisa los haplotipos homocigotos y heterocigotos mutantes de las 34 ovejas positivas de la variante 31-33, a partir de los amplicones de la PCR con el iniciador forward modificado se amplificaron únicamente individuos heterocigotos (1 alelo silvestre) mientras que los individuos homocigotos no amplifican (ambos alelos mutantes; Figura 11), las frecuencias genotípicas fueron de 11.9% para el genotipo homocigoto mutante (BB) con 5 ovejas, 69.05% de individuos heterocigotos mutantes (B+) con 29 animales y 19.05% de ovejas silvestres (++) con 8 ovejas (Tabla 3).

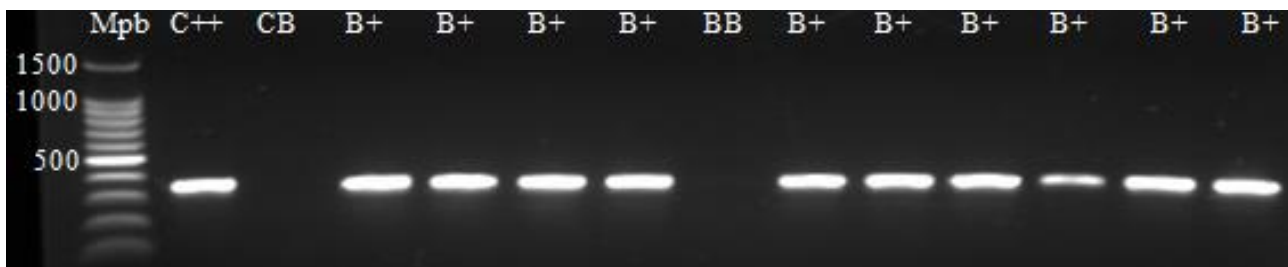


Figura 11. Resultado del genotipado de los individuos mutantes en la secuencia. (C++) control homocigoto silvestre, (CB) control hemicigoto mutante, (B+) genotipo heterocigoto mutante, (BB) genotipo homocigoto mutante.

Tabla 3. Tabla de contingencia de los grupos de altas y bajas prolíficas con relación a los haplotipos identificados.

Genotipo Categoría	Altas 2.26 ± 0.33	Bajas 1.54 ± 0.26	Total
BB	5 = 11.9%	0 = 0%	5 = 11.9%
B+	21 = 50%	8 = 19%	29 = 69.05%
++	3 = 7.4%	5 = 11.9%	8 = 19.05%
Total	29 = 69.05%	13 = 30.95%	42 = 100%

Tabla de contingencia de los grupos de ovejas con respecto a su tamaño de la camada y el genotipo, (BB) homocigoto mutante, (B+) heterocigoto mutante, (++) homocigoto silvestre.

7.5. Efecto de la variante 31-33 sobre la estructura de la proteína BMP15

Se detectó un cambio postraducciona de la pérdida de un codón completo correspondiente a una Lisina en la posición 11 sin cambio en el marco de lectura, pasando de 393 aminoácidos de la proteína de referencia a 392 de la proteína mutante sin pérdida de la función aparente, el modelo predictivo de plegamiento de la proteína mutante comparada con su homóloga de mayor similitud con identificación [Q6PX77.1.A](#) evidencio el efecto de la variante 31-33 sobre una hoja alfa de la proteína funcional (Figura 12-B).

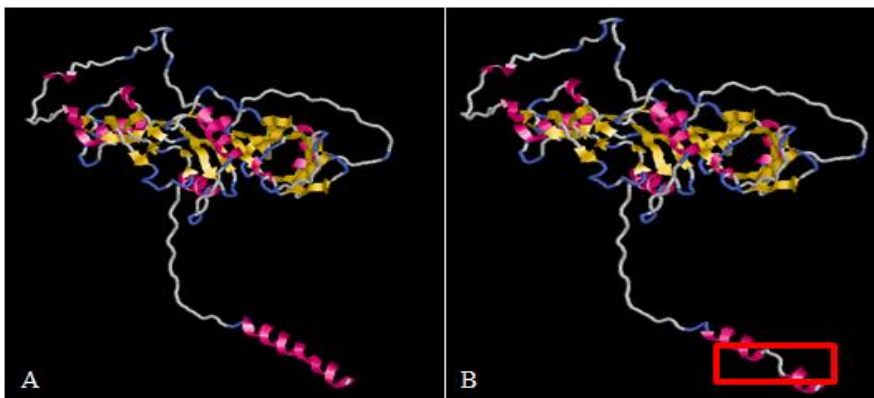


Figura 12. Efecto de la Variante 31-33 sobre la estructura de la proteína BMP15. (A) Modelo tridimensional de la proteína de mayor similitud (Q6PX77.1.A), (B) Modelo tridimensional de la proteína BMP15 con la mutación 31-33.

7.6. Determinación de las frecuencias alélicas y prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg

Se analizaron un total de 84 alelos con una frecuencia del alelo ++ ($p = 0.5357$) y una frecuencia del alelo BB ($q = 0.4643$). Usando las ecuaciones de Hardy-Weinberg se determinó una frecuencia genotípica esperada de 12.05 individuos ++, 20.89 individuos (B+) y 9.05 individuos (BB). El estadístico χ^2 calculado es 6.3240 con un valor $p < 0.05$ por lo que hay evidencia estadística para concluir que la población no está en equilibrio de Hardy-Weinberg.

7.7. Asociación de los haplotipos y el tamaño de la camada

El análisis de asociación mediante la prueba exacta de Fisher demostró independencia entre las variables lo que indica que no hay una asociación significativa del tamaño de la camada de ovejas Katahdin con alguno de los genotipos ($P > 0.05$), el genotipo homocigoto mutante y heterocigoto mutante con 2.12 ± 0.21 y 2.05 ± 0.34 corderos por parto respectivamente comparado con 1.76 ± 0.48 corderos por parto del genotipo silvestre (Tabla 4).

8. DISCUSIÓN

Actualmente la prolificidad es un parámetro reproductivo altamente asociado a la productividad y rentabilidad de los rebaños en todo el mundo por lo que en las últimas décadas se han hecho diferentes estudios en busca de marcadores genéticos asociados a este parámetro como lo son las mutaciones en el gen *BMP15*, Galloway et al. (2000); Hanrahan et al. (2004); McNatty et al. (2005) y Zergani et al. (2022) describen como dichas mutaciones localizadas en la región codificante del gen *BMP15* repercuten de manera positiva o negativa sobre la prolificidad en ovejas y cabras e diferentes razas, donde en los genotipos mutantes tienen este efecto comparado con el genotipo silvestre, en el mismo sentido Galloway et al. (2000); Monteagudo et al., (2009); Lahoz et al. (2011) y Amini et al. (2018) encontraron que algunas mutaciones como las denominadas *FecXR*, *FecXG* y *FecXH* son capaces de generar esterilidad en ovejas portadoras de genotipos homocigotos mutantes dada la pérdida completa de la función de la proteína, sin embargo, en individuos heterocigotos la prolificidad se aumentada. Estudios más recientes que utilizan tecnologías novedosas como la secuenciación de nueva generación han encontrado nuevas mutaciones en los exones I y II del gen *BMP15* en ovejas europeas, asiáticas y de Oceanía, a diferencia de las antes mencionadas estas mutaciones no causan esterilidad en algunos de sus genotipos, sin embargo si son asociadas con la prolificidad de las ovejas portadoras y no causan esterilidad en ninguno de los genotipos, algunas de estas son la T755 y la 31-33 en ovejas asiáticas (Amini et al., 2018; Niu et al. 2021 y Wang et al., 2023). Otros investigadores como Chantepie et al. (2020); Di et al. (2021) y Wang et al. (2023) reportaron el efecto positivo de algunos polimorfismos en otras regiones del gen como en el promotor e incluso en la región intrónica, sin embargo no existe más evidencia científica que sustente este hecho. En países de américa se tienen pocos estudios disponibles que realicen estadísticos de asociación entre variantes del gen *BMP15* y la prolificidad, en este sentido, Argüello et al. (2014) reportaron la presencia de la variante *FecXL* y *FecXG* en ovejas Pelibuey de México. En el presente estudio se logró identificar la variante 31-33 en ovejas Katahdin, sin que hasta el momento haya sido reportada en dicha raza en México. Por su parte, Wang et al. (2023), Ji et al. (2023) y Zhang et al. (2025) han encontrado esta mutación en razas de ovejas, principalmente de Mongolia como las razas Han de cola pequeña, Ujimqin y Hu, a pesar de ser una variante nueva en ser estudiada, originalmente Guo et al. (2004) la reportaron como una delección de una Lisina en las posición 10 y 11 del exón 1 del gen *BMP15* en ovejas Han de cola pequeña, fue este mismo trabajo el primero que atribuye efecto significativo ($P < 0.5$) sobre la prolificidad de estas ovejas aumentando entre un 0.5 y 0.3 corderos más por parto en genotipos homocigotos y heterocigotos comparados con los genotipos silvestres, en estudios recientes hechos en Asia con tecnología de secuenciación de nueva generación han encontrado resultados similares, Ji et al. (2023) en ovejas Chinas Ujimqin y sus cruza y Najafabadi et al. (2021) en ovejas Finlandesas Finnish Landrace asociaron de manera significativa

($P < 0.05$) la variante 31-33 con la prolificidad en sus 629 ovejas evaluadas, en el genotipo mutante homocigoto y heterocigoto las ovejas Ujimquin produjeron 0.14 corderos más por parto y 1.2 corderos más por parto en 238 ovejas Finnish Landrace con genotipo mutante homocigoto y heterocigoto, en contraste los resultados obtenidos en el presente estudio muestran una tendencia de los tres genotipos a estar asociados con el tamaño de la camada de ovejas Katahdin, sin embargo no reflejan asociación significativa ($P > 0.05$), se observó una diferencia numérica 0.36 y 0.29 corderos por parto en los genotipos homocigoto y heterocigoto mutante respectivamente sobre el genotipo silvestre en las 42 ovejas evaluadas, Niu et al. (2021) y Wang et al. (2023) en estudios similares en ovejas Chinas no encontraron un efecto significativo ($P > 0.05$) de los genotipos mutantes sobre la prolificidad de sus 205 y 383 ovejas evaluadas respectivamente, Zhang et al. (2025) no reportó un efecto de la variante 31-33 de ovejas Han con la prolificidad, estos investigadores atribuyen sus resultados al desbalance en las frecuencias genotípicas y el reducido tamaño de muestra, lo que concuerda con nuestros resultados en donde los individuos homocigotos silvestres y homocigotos mutantes son reducidos los que podría alterar los resultados.

De acuerdo con los resultados obtenidos en el análisis de genomas disponibles y alineación fue posible identificar algunas mutaciones en la región codificante tales como la delección 31-33 en ovejas Dorper blanco, Rambouillet, Romanov, Kermani y Hu encontrada en el presente estudio y la mutación T755 de ovejas Dorper blanco también identificada en uno de los controles externos del presente estudio, a pesar de estas variantes entre razas de ovejas se tuvo una identidad del 99.7% lo que vuelve al gen *BMP15* un gen conservado en poblaciones ovinas, según Mahdavi & Dashab (2017) el gen *BMP15* está conservado no solo entre razas sino también entre 23 especies analizadas de mamíferos con un alto valor de mutaciones pero con una identidad del 98%. En el mismo sentido fue posible identificar 12 variaciones de secuencia en la región del intrón entre las razas analizadas, Di et al. (2021) reporta 10 variantes intrónicas en ovejas Luzhong, estas mutaciones no suelen representar cambios postraduccionales sin embargo Wang et al. (2023) encontró asociación de algunas de estas variantes sobre el tamaño de la camada de ovejas chinas, sin embargo no presentan evidencia concluyente que indique un efecto.

Mediante el análisis de genotipos a través de la prueba del equilibrio de Hardy-Weinberg se determinó que el rebaño utilizado en el presente estudio no se encuentra en equilibrio y está sometido a una intensa selección artificial para estos parámetros lo que concuerda con los resultados, aunado a esto según Montgomery et al. (2001) y Golestani et al. (2020) el gen *BMP15* está ligado al sexo por lo que a través del macho es posible acelerar el fijado de esta variante sobre la población analizada lo que interfiere con los resultados de asociación, también se sugiere el efecto sinérgico de otros genes

asociados, Sánchez et al. (2024) y Hernández et al. (2023) han reportado mutaciones en el gen *GDF9* en ovejas Katahdin lo que sugiere que probablemente exista un efecto sinérgico de estas variantes sobre la prolificidad. Galloway et al. (2000) menciona que la proteína *BMP15* es indispensable para el funcionamiento normal de la fertilidad de las hembras mamíferas y la prolificidad de las ovejas, según Pangas & Rajkovic (2015) y Fountas et al. (2024) durante la folículogénesis en el ovario suceden diferentes procesos moleculares dentro de las células, estos son responsables de la síntesis y regulación de la expresión de genes que codifican factores específicos del folículo y que tendrán su lugar en el cumulus, tal es el caso de la proteína *GDF9* y la proteína *BMP15*, este tipo de factores funcionan como mensajeros para a través de la vía de señalización intracelular de las proteínas Smad regulen diversos procesos del crecimiento y maduración de las células de la granulosa, por lo que impacta sobre crecimiento y selección de los folículos, en circunstancias normales estos procesos regulan la maduración de un solo folículo dominante y la ovulación de un solo folículo, cuando existen mutaciones en el gen *BMP15* es posible que se traduzcan errores en la proteína, algunas de estas variantes pueden causar la pérdida completa de la proteína y ocasionar esterilidad, estos procesos aún son objeto de debate y estudio, sin embargo Otsuka et al. (2001); Rossi et al. (2015); Sanfins et al. (2018) y Dalbies-Tran et al. (2020) mencionan que la proteína *BMP15* es necesaria en las etapas tempranas del desarrollo folicular al influir sobre la síntesis de otras proteínas necesarias para iniciar el crecimiento de los folículos primordiales en las oleadas foliculares por lo que la ausencia de esta proteína puede generar ovarios infantiles sin actividad folicular, mientras que en etapas avanzadas del desarrollo folicular regula la síntesis de receptores de LH y FSH de los folículos, si la proteína no está presente en la cantidad necesarias es posible la ausencia de un folículo dominante y pueden ser seleccionados más de un folículo, esto explica el aumento en la tasa ovulatoria en genotipos heterocigotos mutantes ya que según Henderson et al. (1988), Braw-Tal et al. (1993) y Galloway et al. (2000) los ovocitos son capaces de crecer aún en la ausencia de la proliferación de las células de la granulosa al menos hasta que no pueden ser sostenidos por las células residuales y posteriormente degeneran, por el contrario cuando la síntesis de la proteína está a cargo de un solo alelo o copia de *BMP15* la regulación está incompleta lo que genera ovulaciones múltiples, otro factor que puede determinar el efecto de estas mutaciones sobre el fenotipo prolífico es la dominancia o recesividad del gen mutante, Wilkie (1994) y Veitia et al. (2018) mencionan que los alelos mutantes son 90% recesivos y sugieren que el fenómeno de expresión en la dominancia del alelo silvestre no defectuoso y la síntesis del 50 % de la proteína está regulado por la señalización de un ARNm pequeño sintetizado por el alelo dominante que funge como diana sobre el alelo mutante evitando que sea traducido a nivel de promotores y potenciadores, por su parte Monestier et al. (2014) proponen que las altas tasas de variaciones en áreas de *BMP15* en especies poliovulatorias cambian el equilibrio entre homodímeros y

heterodímeros, modificando la actividad biológica y permitiendo así que ocurra la poliovulación. En este estudio se encontró que la variante 31-33 no causa esterilidad, tanto en el genotipo heterocigoto como homocigoto mutante mostraron una tendencia a incrementar el tamaño de la camada (Tabla 4).

Tabla 4. Resultados obtenidos por diferentes autores asociados con la prolificidad y comparados con los resultados obtenido en el presente estudio.

Autor	Razas	BB	B+	++	p
Niu et al. (2021)	Cele Black	1.64 ± 0.18	2.15 ± 0.11	1.9 ± 0.07	>0.05
Wang et al. (2023)	Ujiquin y Mongolia	1.31 ± 0.04	1.35 ± 0.03	-----	>0.05
Najafabadi et al. (2021)	Finnish Landrace	3.42 ± 0.7	-----	2.32 ± 0.2	<0.05
	Cruzas de Finnish Landrace	2.32 ± 0.12	-----	1.92 ± 0.21	<0.05
Ji et al. (2023)	Cruzas de Ujiquin	1.27 ± 0.04	1.27 ± 0.10	1.13 ± 0.02	<0.05
*	Katahdin	2.12 ± 0.21	2.05 ± 0.34	1.76 ± 0.48	>0.05

(*) Resultados obtenidos en el presente estudio.

Wang et al. 2023 y Zhang et al. (2025) encontraron un efecto postraduccional en el plegamiento de una hoja alfa de la proteína funcional lo que coincide con los hallazgos encontrados en el presente estudio donde a través de la modelación tridimensional y tras la pérdida de un aminoácido (leucina) se vio afectada la estructura terciaria de la proteína funcional sin pérdida de la función completa aparente, de acuerdo con Heath et al. (2017) la forma molecular de BMP15 no ha sido comprendida por completo, sin embargo en ensayos *invitro* e *insilico* se ha propuesto las secuencia SEVPGPSREHDGPES como posible epítipo que se une al receptor, esta región se encuentra codificada en el exón II del gen BMP15 fuera de la región donde se localiza la variante 31-33. Por otro lado, Seidah et al. (1999) y Swinerd et al. (2023) menciona que el dominio maduro de la proteína debería estar precedido por un motivo RXXR, en las secuencias existen al menos 5 posibles sitios por lo que no se pueden descartar el efecto de esta variante sobre la función estructural de la proteína y su efecto sobre su función normal.

9. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el presente estudio demostraron la presencia de la variante 31-33 del gen *BMP15* en ovejas de la raza Katahdin, esta variante causa la pérdida de una leucina y un cambio estructural en el plegamiento de la proteína, los genotipos mutantes presentaron una tendencia a incrementar en el tamaño de la camada de las ovejas positivas con respecto a las ovejas silvestres, sin embargo no se demostró una asociación significativa, el rebaño no está en equilibrio Hardy-Weinberg lo que indica una presión selectiva del productor, los hallazgos pueden ser útiles para indagar más sobre los procesos genéticos que determinan el tamaño de la camada a partir de estudios con un mayor número de ovejas evaluadas y un mayor número de registros para detectar el efecto de las variantes del gen *BMP15* sobre el tamaño de la camada.

10. LITERATURA CITADA

- Alonso, R. A., Ulloa-Arvizu, R., & Gayosso-Vázquez, A. (2017). Mitochondrial DNA sequence analysis of the Mexican Creole sheep (*Ovis aries*) reveals a narrow Iberian maternal origin. *Mitochondrial DNA Part A*, 28(6), 793–800. <https://doi.org/10.1080/24701394.2016.1192613>
- Amini, H.-R., Ajaki, A., Farahi, M., Heidari, M., Pirali, A., Forouzanfar, M., & Eghbalsaied, S. (2018). The novel T755C mutation in *BMP15* is associated with the litter size of Iranian Afshari, Ghezel, and Shal breeds. *Archives Animal Breeding*, 61(1), 153–160. <https://doi.org/10.5194/aab-61-153-2018>
- Arisman, B. C., Burke, J. M., Morgan, J. L. M., & Lewis, R. M. (2023). Clustering climate and management practices to define environmental challenges affecting gastrointestinal parasitism in Katahdin sheep. *Journal of Animal Science*, 101, skad002. <https://doi.org/10.1093/jas/skad002b>
- Argüello-Hernández, H. J., Cortez-Romero, C., Rojas-Martínez, R. I., Segura-León, O. L., Herrera-Haro, J. G., Salazar-Ortiz, J., & Gallegos-Sanchez, J. (2014). Polimorfismos de la proteína 15 morfogénica ósea (BMP15) y su relación con el tipo de parto en la oveja Pelibuey. *Agrociencia*, 48(1), 53-69.
- Atuesta, J., y Gonella, Á. (2011). Control hormonal del ciclo estral en bovinos y ovinos. *Spei Domus*, 7(14), 15-25.
- Bacaër, N. (2011). *A Short History of Mathematical Population Dynamics*. Springer London. <https://doi.org/10.1007/978-0-85729-115-8>
- Barrón, J., Salinas, J., Avila, B., Posadas, R., y Vieyra, R. (2019). Investigación en la Educación Superior - Hidalgo 2019. *Evaluación de la rentabilidad privada y estrategias locales de las unidades de producción ovina en el municipio de singuilucan hidalgo, México* (págs. 300-305). Hidalgo: Academia Journals.
- Bartlewski, P. M., Baby, T. E., & Giffin, J. L. (2011). Reproductive cycles in sheep. *Animal Reproduction Science*, 124(3–4), 259–268. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.02.024>
- Barzegari, A., Atashpaz, S., Ghabili, K., Nemati, Z., Rustaei, M., & Azarbaijani, R. (2009). Polymorphisms in *GDF9* and *BMP15* Associated with Fertility and Ovulation Rate in *Moghani* and *Ghezel* Sheep in Iran. *Reproduction in Domestic Animals*. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01327.x>
- Bi, Chu, Jin, Fang, y Ye. (2005). Estrogen receptor as a candidate gene for prolificacy of small tail Han sheep. *Yi chuan xue bao*, 32(10), 1060-165.
- Bodin, L., Di Pasquale, E., Fabre, S., Bontoux, M., Monget, P., Persani, L., & Mulsant, P. (2007). A Novel Mutation in the Bone Morphogenetic Protein 15 Gene Causing Defective Protein Secretion Is

-
- Associated with Both Increased Ovulation Rate and Sterility in Lacaune Sheep. *Endocrinology*, 148(1), 393–400. <https://doi.org/10.1210/en.2006-0764>
- Braw-Tal, R., McNatty, K. P., Smith, P., Heath, D. A., Hudson, N. L., Phillips, D. J., ... & Davis, G. H. (1993). Ovaries of ewes homozygous for the X-linked Inverdale gene (FecXI) are devoid of secondary and tertiary follicles but contain many abnormal structures. *Biology of reproduction*, 49(5), 895-907.
- Buratovich, O. (2010). *Eficiencia reproductiva en ovinos: factores que la afectan. Parte II: otros factores no nutricionales*. Obtenido de Sitio Argentino de Producción Animal: www.produccion-animal.com.ar.
- Calvo, J. H., Chantepie, L., Serrano, M., Sarto, M. P., Iguacel, L. P., Jiménez, M. Á., Alabart, J. L., Folch, J., Fabre, S., & Lahoz, B. (2020). A new allele in the BMP15 gene (FecX) that affects prolificacy co-segregates with FecX and FecX in Rasa aragonesa sheep. *Theriogenology*, 144, 107–111. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.01.010>
- CANACINTRA. (2012). *Cámara Nacional de la Industria de Transformación La alimentación de los mexicanos. Cambios sociales y económicos, y su impacto en los hábitos alimenticios*. GarcíaUriquén P. (ed). *Soluciones de Comunicación S. C. México, D. F.*
- Carvajal, A. M. (2020). *Uso de marcadores genéticos para aumentar la prolificidad en ovinos*.
- Chantepie, L., Bodin, L., Sarry, J., Woloszyn, F., Plisson-Petit, F., Ruesche, J., Drouilhet, L., & Fabre, S. (2020). Genome-Wide Identification of a Regulatory Mutation in BMP15 Controlling Prolificacy in Sheep. *Frontiers in Genetics*, 11, 585. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00585>
- Chessa, B., Pereira, F., Arnaud, F., Amorim, A., Goyache, F., Mainland, I., Kao, R. R., Pemberton, J. M., Beraldi, D., Stear, M. J., Alberti, A., Pittau, M., Iannuzzi, L., Banabazi, M. H., Kazwala, R. R., Zhang, Y., Arranz, J. J., Ali, B. A., Wang, Z., ... Palmarini, M. (2009). Revealing the History of Sheep Domestication Using Retrovirus Integrations. *Science*, 324(5926), 532–536. <https://doi.org/10.1126/science.1170587>
- Chu, M. X., Liu, Z. H., Jiao, C. L., He, Y. Q., Fang, L., Ye, S. C., Chen, G. H., & Wang, J. Y. (2007). Mutations in BMPR-IB and BMP-15 genes are associated with litter size in Small Tailed Han sheep (*Ovis aries*)1. *Journal of Animal Science*, 85(3), 598–603. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-324>
- Cuéllar, O. J., Tórtora, P. J., Trejo, G. A., y Román, R. P. (2012). *La producción ovina mexicana: particularidades y complejidades*. (U. N. México, Ed.) Facultad de estudios superiores Cuautitlán: Ariadna.
- Dalbies-Tran, R., Cadoret, V., Desmarchais, A., Elis, S., Maillard, V., Monget, P., Monniaux, D., Reynaud, K., Saint-Dizier, M., & Uzbekova, S. (2020). A Comparative Analysis of Oocyte Development in Mammals. *Cells*, 9(4), 1002. <https://doi.org/10.3390/cells9041002>
- Demars, J., Fabre, S., Sarry, J., Rossetti, R., Gilbert, H., Persani, L., Tosser-Klopp, G., Mulsant, P., Nowak, Z., Drobik, W., Martyniuk, E., & Bodin, L. (2013). Genome-Wide Association Studies Identify Two

-
- Novel BMP15 Mutations Responsible for an Atypical Hyperproliferacy Phenotype in Sheep. *PLoS Genetics*, 9(4), e1003482. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003482>
- Di, R., Wang, F., Yu, P., Wang, X., He, X., Mwacharo, J. M., Pan, L., & Chu, M. (2021). Detection of Novel Variations Related to Litter Size in BMP15 Gene of Luzhong Mutton Sheep (*Ovis aries*). *Animals*, 11(12), 3528. <https://doi.org/10.3390/ani11123528>
- El-Halawany, N., Kandil, O. M., Shawky, A.-E.-M. A., Al-Tohamy, A. F. M., El-Sayd, Y. A., Abdel-Shafy, H., Abou-Fandoud, E.-S. I., Abdel-Azeem, S. N., El-Rahim, A. H. A., Abdoon, A. S. S., Michal, J. J., & Jiang, Z. (2018). Investigating the effect of GDF9 , BMP15 , BMP6 and BMPR1B polymorphisms on Egyptian sheep fecundity and their transcripts expression in ovarian cells. *Small Ruminant Research*, 165, 34–40. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2018.06.010>
- Espinoza, J., Ortega, R., Palacios , A., Valencia , J., y Aréchiga, C. (2007). Crecimiento folicular ovárico en animales domésticos. *Invciencia*, 32(2), 93-99.
- Fabre, S., Pierre, A., Mulsant, P., Bodin, L., Di Pasquale, E., Persani, L., Monget, P., & Monniaux, D. (2006). Regulation of ovulation rate in mammals: Contribution of sheep genetic models. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 4(1), 20. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-4-20>
- Faul, F., Erdfelder, E., Lang, A.-G., & Buchner, A. (2007). G*Power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behavior Research Methods*, 39(2), 175–191. <https://doi.org/10.3758/BF03193146>
- Fountas, S., Petinaki, E., Bolaris, S., Kargakou, M., Dafopoulos, S., Zikopoulos, A., Moustakli, E., Sotiriou, S., & Dafopoulos, K. (2024). The Roles of GDF-9, BMP-15, BMP-4 and EMMPRIN in Folliculogenesis and In Vitro Fertilization. *Journal of Clinical Medicine*, 13(13), 3775. <https://doi.org/10.3390/jcm13133775>
- Galaviz-Rodríguez, J. R., Vargas-López, S., Zaragoza-Ramírez, J. L., Bustamante-González, A., Ramírez-Bribiesca, E., de Dios, J., & Zepeda, J. S. H. (2011). Evaluación territorial de los sistemas de producción ovina en la región nor-poniente de Tlaxcala. *Rev Mex Cienc Pecu.*
- Galloway, S. M., McNatty, K. P., Cambridge, L. M., Laitinen, M. P. E., Juengel, J. L., Jokiranta, T. S., McLaren, R. J., Luiro, K., Dodds, K. G., Montgomery, G. W., Beattie, A. E., Davis, G. H., & Ritvos, O. (2000). Mutations in an oocyte-derived growth factor gene (BMP15) cause increased ovulation rate and infertility in a dosage-sensitive manner. *Nature Genetics*, 25(3), 279–283. <https://doi.org/10.1038/77033>
- Garritano, S., Gemignani, F., Voegelé, C., Nguyen-Dumont, T., Le Calvez-Kelm, F., De Silva, D., Lesueur, F., Landi, S., & Tavtigian, S. V. (2009). Determining the effectiveness of High Resolution Melting analysis for SNP genotyping and mutation scanning at the TP53 locus. *BMC Genetics*, 10(1), 5. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-10-5>

-
- Gasser, R. B., Hu, M., Chilton, N. B., Campbell, B. E., Jex, A. J., Otranto, D., Cafarchia, C., Beveridge, I., & Zhu, X. (2006). Single-strand conformation polymorphism (SSCP) for the analysis of genetic variation. *Nature Protocols*, 1(6), 3121–3128. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.485>
- Giardina, T., Robinson, C., Grieu-Iacopetta, F., Millward, M., Iacopetta, B., Spagnolo, D., & Amanuel, B. (2018). Implementation of next generation sequencing technology for somatic mutation detection in routine laboratory practice. *Pathology*, 50(4), 389–401. <https://doi.org/10.1016/j.pathol.2018.01.005>
- Gilchrist, R. B., Lane, M., & Thompson, J. G. (2008). Oocyte-secreted factors: Regulators of cumulus cell function and oocyte quality. *Human Reproduction Update*, 14(2), 159–177. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmm040>
- Golestani Eraghi, F., & Miraei-Ashtiani, S. R. (2020). Evaluation of GDF9, BMP15 and BMPR-IB Twin Genes in Some Sheep. *Professional Journal of Domestic*, 19(3), 15-19.
- Guo, W., Chu, M. X., Deng, X. M., Feng, J. D., Li, N., & Wu, C. (2004). Association of a Single Codon Deletion in Bone Morphogenetic Protein 15 Gene with Prolificacy in Small Tail Han Sheep. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 17(11), 1491–1495. <https://doi.org/10.5713/ajas.2004.1491>
- Gutiérrez, C., Rangel, L., y Lassala, A. (2009). Pubertad ciclo estral y estacionalidad. En C. Galina, y J. Valencia, *Reproducción de los animales domésticos* (págs. 85-116). México: Limusa.
- Hafez, E., y Hafez, B. (2002). Ciclos reproductivos. En E. Hafez, y B. Hafez, *Reproducción e inseminación artificial en animales* (págs. 56-70). México: MC Graw-Hill Interamericana
- Hanrahan, J. P., Gregan, S. M., Mulsant, P., Mullen, M., Davis, G. H., Powell, R., & Galloway, S. M. (2004). Mutations in the Genes for Oocyte-Derived Growth Factors GDF9 and BMP15 Are Associated with Both Increased Ovulation Rate and Sterility in Cambridge and Belclare Sheep (*Ovis aries*)1. *Biology of Reproduction*, 70(4), 900–909. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.103.023093>
- Heath, D. A., Pitman, J. L., & McNatty, K. P. (2017). Molecular forms of ruminant BMP15 and GDF9 and putative interactions with receptors. *Reproduction*, 154(4), 521–534. <https://doi.org/10.1530/REP-17-0188>
- Henao, G., y Trujillo, L. (2000). Establecimiento y desarrollo de la dominancia folicular bovina. *Rev Col Cienc Pec*, 13(2), 108-120.
- Henderson, K. M., Savage, L. C., Ellen, R. L., Ball, K., & McNatty, K. P. (1988). Consequences of increasing or decreasing plasma FSH concentrations during the preovulatory period in Romney ewes. *Reproduction*, 84(1), 187–196. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0840187>
- Hernández, J., Ruíz, J., Mireles, A., Cortez, C., y Gallegos, J. (2017). Contribución de la ovinocultura al sector pecuario en México. *Agro productividad*, 10(3).
- Hernández-Rubio, D. J., Navarro-Maldonado, M. D. C., González-Muñoz, S. S., Hernández-Rodríguez, M., Conde-Hinojosa, M. P., & Cortez-Romero, C. (2023). Influencia de la presincronización del estro en

-
- variables reproductivas de ovejas de la raza katahdin portadoras del gen *GDF9*. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 26(2). <https://doi.org/10.56369/tsaes.4269>
- IICA. (2022). *Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura*. Recuperado el 2022, de La carne de ovinos y caprinos, una alternativa para la seguridad alimentaria, afirman productores: <https://ica.int/es/prensa/noticias/la-carne-de-ovinos-y-caprinos-una-alternativa-para-la-seguridad-alimentaria-afirman>
- Ijaz, M., Yar, M. K., Badar, I. H., Ali, S., Islam, Md. S., Jaspal, M. H., Hayat, Z., Sardar, A., Ullah, S., & Guevara-Ruiz, D. (2021). Meat Production and Supply Chain Under COVID-19 Scenario: Current Trends and Future Prospects. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 660736. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.660736>
- Javanmard, A., Azadzadeh, N., & Esmailizadeh, A. K. (2011). Mutations in bone morphogenetic protein 15 and growth differentiation factor 9 genes are associated with increased litter size in fat-tailed sheep breeds. *Veterinary Research Communications*, 35(3), 157–167. <https://doi.org/10.1007/s11259-011-9467-9>
- Jenkins, Z., Henry, H., Sise, J., & Montgomery, G. (2000). Follistatin (FST), growth hormone receptor (GHR) and prolactin receptor (PRLR) genes map to the same region of sheep chromosome 16. *Animal Genetics*, 31(4).
- Ji, X., Cao, Z., Hao, Q., He, M., Cang, M., Yu, H., Ma, Q., Li, X., Bao, S., Wang, J., & Tong, B. (2023). Effects of New Mutations in BMP1B, GDF9, BMP15, LEPR, and B4GALNT2 Genes on Litter Size in Sheep. *Veterinary Sciences*, 10(4), 258. <https://doi.org/10.3390/vetsci10040258>
- Krebs, Goldstein y Kilpatrick. (2018). *LEWIN'S GENES XII*. Copyright.
- Lahoz, B., Alabart, J. L., Jurado, J. J., Calvo, J. H., Martínez-Royo, A., Fantova, E., & Folch, J. (2011). 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 application1. *Journal of Animal Science*, 89(11), 3522–3530. <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3828>
- Lassoued, N., Benkhilil, Z., Woloszyn, F., Rejeb, A., Aouina, M., Rekik, M., Fabre, S., & Bedhiaf-Romdhani, S. (2017). FecX Bar a Novel BMP15 mutation responsible for prolificacy and female sterility in Tunisian Barbarine Sheep. *BMC Genetics*, 18(1), 43. <https://doi.org/10.1186/s12863-017-0510-x>
- Li, Q., Rajanahally, S., Edson, M. A., & Matzuk, M. M. (2009). Stable expression and characterization of N-terminal tagged recombinant human bone morphogenetic protein 15. *Molecular Human Reproduction*, 15(12), 779–788. <https://doi.org/10.1093/molehr/gap062>

-
- Liu, Z. (2007). Restriction Fragment Length Polymorphism (RFTP). In *Aquaculture Genome Technologies*, Z. Liu (Ed.). <https://doi.org/10.1002/9780470277560.ch2>
- Liandris, E., Kominakis, A., Andreadou, M., Kapeoldassi, K., Chadio, S., Tsiligianni, Th., Gazouli, M., & Ikononopoulos, I. (2012). Associations between single nucleotide polymorphisms of GDF9 and BMP15 genes and litter size in two dairy sheep breeds of Greece. *Small Ruminant Research*, 107(1), 16–21. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.04.004>
- Lozano-González, J. F., Uribe-Velásquez, L. F., & Osorio, J. H. (2012). Hormonal control in ovine females reproduction (Ovisaries). *Veterinaria y Zootecnia*.
- Palomera, C., & Morales, R. A. (2014). Genes con efecto mayor sobre la fertilidad de ovejas. Revisión. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 5(1), 106. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v5i1.3219>
- Mahdavi, M., & Dashab, G. R. (2017). An evolutionary and phylogenetic study of the BMP15 gene. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 7(2), 197–209.
- Martinez-Royo, A., Jurado, J. J., Smulders, J. P., Martí, J. I., Alabart, J. L., Roche, A., Fantova, E., Bodin, L., Mulsant, P., Serrano, M., Folch, J., & Calvo, J. H. (2008). A deletion in the *bone morphogenetic protein 15* gene causes sterility and increased prolificacy in Rasa Aragonesa sheep. *Animal Genetics*, 39(3), 294–297. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2008.01707.x>
- McNatty, K. P., Juengel, J. L., Reader, K. L., Lun, S., Myllymaa, S., Lawrence, S. B., Western, A., Meerasahib, M. F., Mottershead, D. G., Groome, N. P., Ritvos, O., & Laitinen, M. P. E. (2005). Bone morphogenetic protein 15 and growth differentiation factor 9 co-operate to regulate granulosa cell function in ruminants. *Reproduction*, 129(4), 481–487. <https://doi.org/10.1530/rep.1.00517>
- Menon, R. K., Trucco, M., Majzoub, J. A., & Stratakis, C. A. (2021). Molecular Endocrinology, Endocrine Genetics, and Precision Medicine. In *Sperling Pediatric Endocrinology* (pp. 9–29). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-62520-3.00002-6>
- Monestier, O., Servin, B., Auclair, S., Bourquard, T., Poupon, A., Pascal, G., & Fabre, S. (2014). Evolutionary Origin of Bone Morphogenetic Protein 15 and Growth and Differentiation Factor 9 and Differential Selective Pressure Between Mono- and Polyovulating Species1. *Biology of Reproduction*, 91(4). <https://doi.org/10.1095/biolreprod.114.119735>
- Monteagudo, L. V., Ponz, R., Tejedor, M. T., Laviña, A., & Sierra, I. (2009). A 17bp deletion in the Bone Morphogenetic Protein 15 (BMP15) gene is associated to increased prolificacy in the Rasa Aragonesa sheep breed. *Animal Reproduction Science*, 110(1–2), 139–146. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.01.005>
- Montgomery, G., Galloway, S., Davis, G., & McNatty, K. (2001). Genes controlling ovulation rate in sheep. *Reproduction*, 121(6), 843–852. <https://doi.org/10.1530/rep.0.1210843>

-
- Moore, R. K., Otsuka, F., & Shimasaki, S. (2003). Molecular Basis of Bone Morphogenetic Protein-15 Signaling in Granulosa Cells. *Journal of Biological Chemistry*, 278(1), 304–310. <https://doi.org/10.1074/jbc.M207362200>
- Moraes, F. P. D., Missio, D., Lazzari, J., Rovani, M. T., Ferreira, R., Gonçalves, P. B. D., & Gasperin, B. G. (2022). Local regulation of antral follicle development and ovulation in monovulatory species. *Animal Reproduction*, 19(4), e20220099. <https://doi.org/10.1590/1984-3143-ar2022-0099>
- Morris, S. T. (2017). Overview of sheep production systems. In *Advances in Sheep Welfare* (pp. 19–35). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100718-1.00002-9>
- Nadri, S., Zamani, P., & Ahmadi, A. (2016). Novel Mutation in Exon I of the *BMP15* Gene and its Association with Reproduction Traits in Sheep. *Animal Biotechnology*, 27(4), 256–261. <https://doi.org/10.1080/10495398.2016.1182539>
- Najafabadi, H. A., Khansefid, M., Mahmoud, G. G., Haruna, I. L., Zhou, H., & Hickford, J. G. H. (2021). Identification of sequence variation in the oocyte-derived bone morphogenetic protein 15 (BMP15) gene (BMP15) associated with litter size in New Zealand sheep (*Ovis aries*) breeds. *Molecular Biology Reports*, 48(9), 6335–6342. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06627-z>
- NCI dictionary of Cancer Terms. (2011, febrero 2). National Cancer Institute. <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/ovarian-follicle>
- Nilson, S. M., Burke, J. M., Becker, G. M., Murdoch, B. M., Petersen, J. L., & Lewis, R. M. (2024). Genomic Diversity of U.S. Katahdin Hair Sheep. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, jbg.12914. <https://doi.org/10.1111/jbg.12914>
- Niu, Z., Qin, J., Jiang, Y., Ding, X.-D., Ding, Y., Tang, S., & Shi, H. (2021). The Identification of Mutation in BMP15 Gene Associated with Litter Size in Xinjiang Cele Black Sheep. *Animals*, 11(3), 668. <https://doi.org/10.3390/ani11030668>
- Ongay, L., & Códiz, G. (2021). Secuenciación de ADN por el método de terminación de la cadena de Sanger. *Mensaje Bioquímico*, 45, 23-34.
- Otsuka, F., Yamamoto, S., Erickson, G. F., & Shimasaki, S. (2001). Bone Morphogenetic Protein-15 Inhibits Follicle-stimulating Hormone (FSH) Action by Suppressing FSH Receptor Expression. *Journal of Biological Chemistry*, 276(14), 11387–11392. <https://doi.org/10.1074/jbc.M010043200>
- Padilla, J., Mapes, G., y Jimenez, F. (1998). Perfiles hormonales durante el ciclo estral de la oveja. *Tec. Prec. Mex*, 28(1), 96-108.
- Partida de la peña, J., Braña, D., Jimenez, H., Rios, F., y Buendia, G. (2013). *Producción de carne ovina*. Ajuchitlán Querétaro: INIFAP.

-
- Pereira, R., Oliveira, J., & Sousa, M. (2020). Bioinformatics and Computational Tools for Next-Generation Sequencing Analysis in Clinical Genetics. *Journal of Clinical Medicine*, 9(1), 132. <https://doi.org/10.3390/jcm9010132>
- Pangas, S. A., Rajkovic, A., Vinci, D., & Carpi, B. (2015). Follicular development: mouse, sheep, and human models. *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction: Two-Volume Set, 1*, 947-995.
- Pulkki, M. M. (2011). The bioactivity of human bone morphogenetic protein-15 is sensitive to C-terminal modification: Characterization of the purified untagged processed mature region. *Molecular and Cellular Endocrinology*.
- Ribate, M. P., Ramos, F. J. (2008). Dismorfología clínica genética II: técnicas de diagnóstico molecular en los síndromes pediátricos. *Anales de Pediatría Continua*. DOI: 10.1016/S1696-2818(08)74869-8
- Rodríguez J; Benavente M; Puntas J; Delgado J; Barba C. (2002) *La Prolificidad en la Oveja Segureña*. V Congreso Nacional[SERGA y 111 Ibérico sobre los Recursos Genéticos Animales. Madrid. España.
- Rossi, R. O. D. S., Portela, A. M. L. R., Passos, J. R. S., Cunha, E. V., Silva, A. W. B., Costa, J. J. N., ... & Silva, J. R. V. (2018). Effects of BMP-4 and FSH on growth, morphology and mRNA expression of oocyte-secreted factors in cultured bovine secondary follicles. *Animal Reproduction (AR)*, 12(4), 910-919.
- Sánchez-Ramos, R., Hernández-Marín, J. A., Ortiz-Salazar, J. A., Olmos-Oropeza, G., & Cortez-Romero, C. (2024). Gonadotropina coriónica equina (eCG) y gen GDF9 en el comportamiento reproductivo de ovejas raza Katahdin. *Revista MVZ Córdoba*, 27(s), e2888. <https://doi.org/10.21897/rmvz.2888>
- Sanfins, A., Rodrigues, P., & Albertini, D. F. (2018). GDF-9 and BMP-15 direct the follicle symphony. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 35(10), 1741–1750. <https://doi.org/10.1007/s10815-018-1268-4>
- Seidah, N. G., & Chretien, M. (1999). Proprotein and prohormone convertases: A family of subtilases generating diverse bioactive polypeptides. *Proprotein Convertases*.
- SIAP. (2014). *Producción agropecuaria y pesquera*. Recuperado el 2022, de Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta SIACON: <http://www.siap.gob.mx/optestadisticasiacon2012parcialsiacon-zip/>
- SIAP. (2015). *Poblacion ganadera* . Recuperado el 2019 de 07 de 2019, de ovino, poblacion ganadera : https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/276009/Ovino_1.pdf
- SIAP. (27 de 05 de 2016). *POBLACIÓN GANAERA* . Recuperado el 30 de 07 de 2019, de Población ganadera encontrara datos del número de cabezas según el tipo de producto.: <https://www.gob.mx/siap/poblacion-ganadera/>
- SIAP. (2022). *Poblacion ganadera*. Recuperado el 2022, de <https://www.gob.mx/siap/documentos/poblacion-ganadera-136762>

-
- Smolucha, G., Piórkowska, K., Ropka-Molik, K., & Sikora, J. (2020). Use of the HRM Method in Quick Identification of FecXO Mutation in Highly Prolific Olkuska Sheep. *Animals*, 10(5), 844. <https://doi.org/10.3390/ani10050844>
- Strome, S., Bhalla, N., Kamakaka, R., Sharma, U., & Sullivan, W. (2024). Clarifying Mendelian vs non-Mendelian inheritance. *GENETICS*, 227(3), iyae078. <https://doi.org/10.1093/genetics/iyae078>
- Swinerd, G. W., Alhussini, A. A., Sczelecki, S., Heath, D., Mueller, T. D., McNatty, K. P., & Pitman, J. L. (2023). Molecular forms of BMP15 and GDF9 in mammalian species that differ in litter size. *Scientific Reports*, 13(1), 22428. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-49852-1>
- Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38(7), 3022–3027. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
- UNO. (9 de Marzo de 2023). *Organismo de la Unidad Nacional de Ovinocultores*. Recuperado el 9 de Marzo de 2023, de Katahdin: https://uno.org.mx/razas_ovinas/katahdin.html
- Uribe-Velázquez, L. F., Correa-Orozco, A., & Osorio, J. H. (2009.). *Características del crecimiento folicular ovárico durante el ciclo estral en ovejas*. *Biosalud*, 8(1), 117-131.
- Veitia, R. A., Caburet, S., & Birchler, J. A. (2018). Mechanisms of Mendelian dominance. *Clinical Genetics*, 93(3), 419–428. <https://doi.org/10.1111/cge.13107>
- Velasco, E., Infante, M., Durán, M., Pérez-Cabornero, L., Sanz, D. J., Esteban-Cardenosa, E., & Miner, C. (2007). Heteroduplex analysis by capillary array electrophoresis for rapid mutation detection in large multiexon genes. *Nature Protocols*, 2(1), 237–246. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.482>
- Wang, L., & Li, P. C. H. (2011). Microfluidic DNA microarray analysis: A review. *Analytica Chimica Acta*, 687(1), 12–27. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.11.056>
- Wang, W., Liu, S., Li, F., Pan, X., Li, C., Zhang, X., Ma, Y., La, Y., Xi, R., & Li, T. (2015). Polymorphisms of the Ovine BMPR-IB, BMP-15 and FSHR and Their Associations with Litter Size in Two Chinese Indigenous Sheep Breeds. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(5), 11385–11397. <https://doi.org/10.3390/ijms160511385>
- Wang, Y., Chi, Z., Jia, S., Zhao, S., Cao, G., Purev, C., Cang, M., Yu, H., Li, X., Bao, S., Liu, Y., Wang, J., & Tong, B. (2023). Effects of novel variants in BMP15 gene on litter size in Mongolia and Ujimqin sheep breeds. *Theriogenology*, 198, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2022.12.005>
- Wang, Z., Li, M., Lan, X., Li, M., Lei, C., & Chen, H. (2014). Tetra-primer ARMS-PCR identifies the novel genetic variations of bovine HNF-4 α gene associating with growth traits. *Gene*, 546(2), 206–213. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2014.06.014>
- Wilkie, A. O. (1994). The molecular basis of genetic dominance. *Journal of Medical Genetics*, 31(2), 89–98. <https://doi.org/10.1136/jmg.31.2.89>

-
- Zamani, P., Nadri, S., Saffaripour, R., Ahmadi, A., Dashti, F., & Abdoli, R. (2015). A new mutation in exon II of the bone morphogenetic protein 15 gene is associated with increase in prolificacy of Mehraban and Lori sheep. *Tropical Animal Health and Production*, 47(5), 855–860. <https://doi.org/10.1007/s11250-015-0799-2>
- Zergani, E., Rashidi, A., Rostamzadeh, J., Razmkabir, M., & Tetens, J. (2022). Meta-analysis of association between c.963A > G single-nucleotide polymorphism on *BMP15* gene and litter size in goats. *Archives Animal Breeding*, 65(3), 309–318. <https://doi.org/10.5194/aab-65-309-2022>
- Zhang, Y., Wang, H., Li, T., Zhang, N., Chen, J., Yang, H., Peng, S., Ma, R., Wang, D., Liu, Q., & Wang, Y. (2025). Association of BMP15 and GDF9 Gene Polymorphisms with Litter Size in Hu Sheep. *Genes*, 16(2), 168. <https://doi.org/10.3390/genes16020168>