

ANEXO VIII

INFORME RESUMEN JUSTIFICATIVO- FICHA RESUMEN.

Justificación octubre 2022.

Tipo de informe (marcar el que proceda):

☐ Anual, proyecto en curso (se presentará en la justificación de octubre o en la de junio si se justifica la anualidad entera en este mes)

☒ Final de proyecto (justificación de junio o de octubre, en función de cuando termine el proyecto). Se acompañará de power point de 30 imágenes de las distintas fases con una breve explicación de cada una de ellas.

Nº Código del grupo de cooperación: GPC-2019-0038-00
Nombre del grupo de cooperación: APLICACIÓN DE NUEVAS HERRAMIENTAS REPRODUCTIVAS Y GENÉTICAS PARA MEJORAR LA SOSTENIBILIDAD DEL OVINO DE CARNE ARAGONES
Ámbito de actuación (señalar el que corresponda: productividad y sostenibilidad de explotaciones, mejora del regadío o aumento del valor añadido): Productividad y sostenibilidad de explotaciones
Número de miembros del grupo: 4 Beneficiarios: - OVIARAGON SCL - SOCIEDAD COOPERATIVA TERUEL GANADERA Miembros no beneficiarios: - ARAID - CITA
Reseña de reuniones celebradas: 1.- De coordinación del grupo: - 19/04/2022_ reunión con CITA-ARAID _OVIARAGON en las instalaciones de CITA - 26/09/2022_ reunión con CITA-ARAID _OVIARAGON en las instalaciones de Oviaragón - Reuniones/comunicación semanal para la coordinación de los ensayos de campo durante los periodos en que se han realizado. - Semestrales con seguimiento del trabajo y análisis de resultados. 2.- Entre beneficiarios o socios del propio grupo: - Semanales para la coordinación de muestreos entre técnicos de campo y coordinador Oviaragón - Semanales para la coordinación de envío de muestras entre coordinador y técnicos de CITA y ARAID - Periódicas con seguimiento del trabajo y análisis de resultados. 3.- Miembros del grupo con entidades externas: - Contactos periódicos de miembros de Araid (J. H. Calvo) con los proveedores de material de laboratorio para técnica analítica KASP y otras. - Contactos periódicos con Donato Andueza (INRA Clermont-Ferrand) Especialista NIRS

Descripción de los trabajos realizados por el grupo y cronograma (resumen):

- Objetivo 1: Aplicar nuevas herramientas de diagnóstico reproductivo que hagan posible la detección precoz de animales más productivos.

Con el fin de realizar un diagnóstico reproductivo que haga posible la detección precoz de animales más productivos, en este caso, corderas fértiles a una edad más temprana aplicando la tecnología NIRS (Near Infrared Reflectance Spectroscopy; infrarrojo cercano) como nueva herramienta, se tomaron muestras de plasma sanguíneo de las corderas de reposición de 20 ganaderías participantes, socias de Oviaragón y COTEGA, a una edad menor de 3 meses y se

obtuvieron los espectros NIRS de dichas muestras. Las corderas se cubrieron a una edad de hasta 9,3 meses (cubrición temprana) o a una edad de hasta 12,5 meses (cubrición estándar).

En las 20 ganaderías se tomaron muestras de sangre entre 1 y 3 ocasiones, totalizando 60 grupos de corderas diferentes. Como algunos de estos grupos de un mismo ganadero se cubrieron al mismo tiempo, el número de lotes de cubrición fue 34, con un número de corderas entre 13 y 278 (Figura 1 y tabla 1).

Se realizó un archivo con las siguientes variables: crotal de cordera, identificación electrónica de adulta, identificación de la ganadería, fecha de nacimiento, fecha de toma de sangre, fecha de ecografía, fecha de parto, tipo de parto, fecha de baja por muerte, si se cubrieron separadas de las adultas o no, condición corporal y observaciones.

Se depuró el archivo, resultando un total de 3.189 datos válidos. Las causas de exclusión han sido: muestra insuficiente, identificación individual duplicada, sin identificación electrónica, muerte antes de la edad máxima de la cubrición estándar o aborto de la cubrición temprana o estándar.

Las ovejas se clasificaron como paridas o no paridas en cubrición temprana, paridas o no paridas en cubrición temprana o bien en la estándar, y ovejas que parieron o no, en cubriciones posteriores.

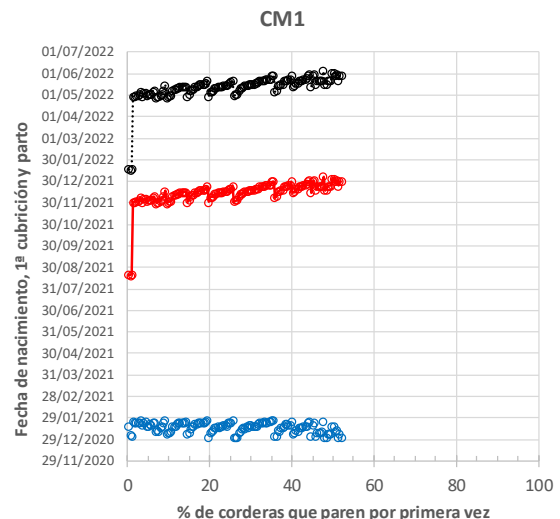
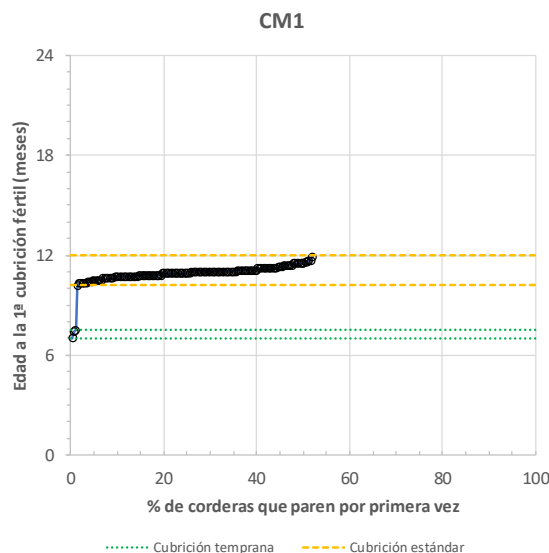
Se estableció el perfil de edades de cubrición fértil de las corderas de reposición para cada ganadero, así como su fertilidad en cubrición temprana, en cubrición temprana o bien en la estándar, y en cubriciones posteriores.

En cada lote, se representan en la gráfica de la izquierda las corderas ordenadas por edad a la primera cubrición fértil. El rango de edades de cubrición temprana (en verde) y el de cubrición estándar (en amarillo) también se representan en dicha gráfica.

También para cada lote, en la gráfica de la derecha se representan: las fechas de nacimiento, fechas de primera cubrición fértil y fechas de parto, respectivamente.

Debajo de ambas gráficas se indican las siguientes variables que definen cada lote, así como sus indicadores de precocidad:

Número total de corderas en el lote, Fertilidad en la cubrición temprana, Fertilidad conjunta de la cubrición temprana + estándar, Fertilidad total (incluyendo, además, cubriciones posteriores), Edad media al primer parto (expresada en días), Edad media a la primera cubrición (expresada en meses), Condición corporal media, y si la cubrición de las corderas se llevó a cabo junto con las ovejas adultas (CON) o de forma separada (SIN).



Nº de corderas:	273
Fertilidad cubrición temprana (7-7.5 meses):	1.1% (3/273)
Fertilidad cubrición temprana+estándar (7-7.5 y 10.2-12 meses):	52.0% (142/273)
Fertilidad t+e+posteriores:	52.0% (142/273)
Edad media al primer parto:	482 días (15.8 meses)
Edad media a la primera cubrición:	332 días (10.9 meses)
Condición corporal:	2.59
CON/SIN ovejas adultas:	CON

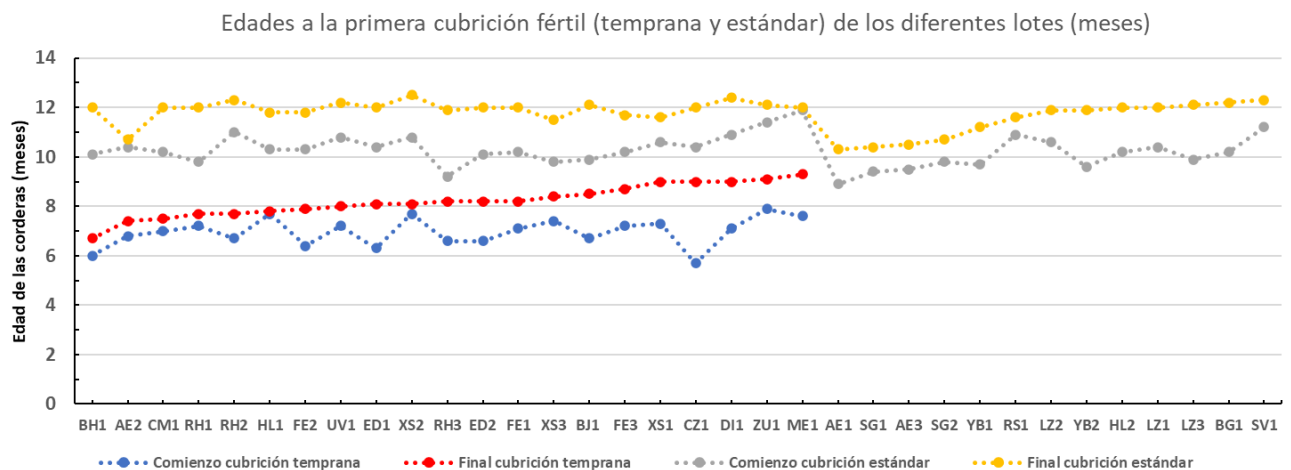
Los resultados medios, para cada lote de cubrición, así como para el global de datos, se enumeran en la Tabla 1.

Tabla 1. Características de los diferentes lotes de cubrición de corderas y resultado de fertilidad de sus cubriciones. Los datos de lotes resaltados en verde corresponden al 10% de mejores características o resultados y en rojo, los 10% peores.

LOTE	Nº Corderas	Edades cub. Temprana (meses)	Edades cub. estándar (meses)	Fertilidad cub. temprana (%)	Fertilidad cub. temprana+estándar (%)	Fertilidad t+e+posteriores (%)	Media de edad al primer parto (días)	Media de edad a la primera cubrición (meses)	Condición corporal media	CON/SIN ovejas adultas
AE1	23	---	8.9-10.3	---	43.5	91.3	528	12.4	?	CON
AE2	18	6.8-7.4	10.4-10.7	11.1	27.8	88.9	558	13.4	?	CON
AE3	36	---	9.5-10.5	---	22.2	86.1	519	12.1	?	CON
BG1	167	---	10.2-12.2	---	90.4	90.4	484	10.9	2.92	SIN
BH1	21	6-6.7	10.1-12	4.8	95.2	100	479	10.8	?	SIN
BJ1	163	6.7-8.5	9.9-12.1	18.4	83.4	83.4	459	10.1	?	SIN
CM1	273	7-7.5	10.2-12	1.1	52	52	482	10.9	2.59	CON
CZ1	167	5.7-9	10.4-12	68.9	86.2	97	425	9	?	SIN
DI1	273	4.2*-9	10.9-12.4	22.7	93	97.1	481	10.8	?	CON
ED1	81	6.3-8.1	10.4-12	50.6	79	97.5	468	10.4	?	SIN
ED2	86	6.6-8.2	10.1-12	25.6	89.5	89.5	456	10	3.25	SIN
FE1	278	7.1-8.2	10.2-12	6.1	63.7	94.2	549	13.1	?	CON
FE2	149	6.4-7.9	10.3-11.8	1.3	59.1	80.5	513	11.9	?	CON
FE3	249	7.2-8.7	10.2-11.7	8	61.4	62.2	470	10.5	?	CON
HL1	137	7.7-7.8	10.3-11.8	1.5	30.7	94.9	650	16.4	?	CON
HL2	116	---	10.2-12	---	56.9	56.9	487	11	3.25	CON
LZ1	59	---	10.4-12	---	66.1	89.8	535	12.6	?	SIN
LZ2	13	---	10.6-11.9	---	61.5	84.6	524	12.3	?	SIN
LZ3	66	---	9.9-12.1	---	54.5	54.5	483	10.9	?	SIN
ME1	22	7.6-9.3	11.9-12	54.5	59.1	81.8	504	11.6	?	CON
RH1	62	7.2-7.7	9.8-12	8.1	66.1	93.5	512	11.9	?	CON
RH2	36	6.7-7.7	11-12.3	25	58.3	88.9	503	11.6	3.14	CON
RH3	78	6.6-8.2	9.2-11.9	11.5	71.8	71.8	465	10.3	2.79	CON
RS1	25	---	10.9-11.6	---	72	72	493	11.2	?	SIN
SG1	30	---	9.4-10.4	---	30	93.3	617	15.3	?	CON
SG2	24	---	9.8-10.7	---	25	91.7	534	12.6	?	CON
SV1	28	---	11.2-12.3	---	32.1	42.9	535	12.6	?	SIN
UV1	29	7.2-8	10.8-12.2	13.8	82.8	82.8	480	10.8	?	SIN
XS1	113	7.3-9	10.6-11.6	49.6	63.7	93.8	506	11.7	?	CON
XS2	41	7.7-8.1	10.8-12.5	7.3	73.2	75.6	505	11.6	?	CON
XS3	154	7.4-8.4	9.8-11.5	4.5	37	37	467	10.4	?	CON
YB1	79	---	9.7-11.2	---	73.4	84.8	502	11.5	?	SIN
YB2	70	---	9.6-11.9	---	71.4	71.4	475	10.7	3	SIN
ZU1	20	7.9-9.1	11.4-12.1	65	100	100	443	9.6	?	CON
TOTAL	3186	Máx. 6.6-9.3	Máx. 10.3-12.5	21.9±22.1	62.7±21.7	81.5±16.6	502.7±45.1	11.6±1.5	3±0.2	41.2% SIN

*Sólo una oveja; realmente: 7.1; Rangos y medias ± desviación estándar

Figura 1. Intervalos de edades a la primera cubrición fértil (temprana o estándar), de los 34 lotes de cubrición. Cuando un ganadero tiene un solo lote de corderas muestreado, se muestra con las siglas, seguidas de un 1. Si tiene más lotes, se muestran con las siglas seguidas de un 2 o un 3. Los lotes están ordenados según la edad máxima de cubrición temprana (línea roja)



A partir de los espectros NIRS, se han determinado ecuaciones de predicción de ovejas gestantes y vacías en cubrición temprana, así como en temprana o estándar, en cada lote. **Los resultados se resumen en la Tabla 2. La mejora que se obtendría en la fertilidad sería de 6.4 a 95.5% en cubrición temprana y de 1.8 a 67.9% en temprana+estándar.**

Tabla 2. Tabla de predicción por NIRS. Los datos de lotes resaltados en verde corresponden al 10% de mejores características o resultados y en rojo, los 10% peores.

LOTE	Nº Corderas	Edades cub. Temprana (meses)	Edades cub. estándar (meses)	Fertilidad cub. temprana (%)	Fertilidad cub. temprana+e stándar (%)	%Bien clasificadas (temprana)	%Bien clasificadas (temprana + estándar)	Temprana: %Fertilidad elegidas NIRS (VPP+)	Temprana + estándar: %Fertilidad elegidas NIRS (VPP+)	Temprana: Mejora en %Fertilidad elegidas NIRS	Temprana + estándar: Mejora en %Fertilidad elegidas NIRS
AE1	23	---	8.9-10.3	---	43.5	---	100	---	100	---	56.5
AE2	18	6.8-7.4	10.4-10.7	11.1	27.8	NC	NC	NC	NC	NC	NC
AE3	36	---	9.5-10.5	---	22.2	---	97.2	---	87.5	---	65.3
BG1	167	---	10.2-12.2	---	90.4	---	94	---	100	---	9.6
BH1	21	6-6.7	10.1-12	4.8	95.2	NC	NC	NC	NC	NC	NC
BJ1	163	6.7-8.5	9.9-12.1	18.4	83.4	95.7	NC	98.5	NC	80.1	NC
CM1	273	7-7.5	10.2-12	1.1	52	NC	76.5	NC	73.8	NC	21.8
CZ1	167	5.7-9	10.4-12	68.9	86.2	85.6	97	88.5	99.3	19.6	13.1
DI1	273	4.2-9	10.9-12.4	22.7	93	85.7	97.8	91.9	99.6	69.2	6.6
ED1	81	6.3-8.1	10.2-11.7	50.6	79	91.4	96.3	85	100	34.4	21
ED2	86	6.6-8.2	10.1-12	25.6	89.5	98.8	98.8	100	95.2	74.4	5.7
FE1	278	7.1-8.2	10.2-12	6.1	63.7	96.4	78.4	99.6	92.7	93.5	29
FE2	149	6.4-7.9	10.3-11.8	1.3	59.1	NC	83.2	NC	80.7	NC	21.6
FE3	249	7.2-8.7	10.2-11.7	8	61.4	98.4	85.5	98.7	86.9	90.7	25.5
HL1	137	7.7-7.8	10.3-11.8	1.5	30.7	NC	NC	NC	NC	NC	NC
HL2	116	---	10.2-12	---	56.9	---	NC	---	NC	---	NC
LZ1	59	---	10.4-12	---	66.1	---	94.9	---	100	---	33.9
LZ2	13	---	10.6-11.9	---	61.5	---	NC	---	NC	---	NC
LZ3	66	6-6.6	9.9-12.1	---	54.5	---	97	NC	97.2	NC	42.7
ME1	22	7.6-9.3	11.9-12	54.5	59.1	81	95.2	66.7	100	12.2	40.9
RH1	62	7.2-7.7	9.8-12	8.1	66.1	NC	93.4	NC	97.6	NC	31.5
RH2	36	6.7-7.7	11-12.3	25	58.3	88.9	NC	100	NC	75	NC
RH3	78	6.6-8.2	9.2-11.9	11.5	71.8	95.1	NC	100	NC	88.5	NC
RS1	25	---	10.9-11.6	---	72	---	96	---	100	---	28
SG1	30	---	9.4-10.4	---	30	---	93.1	---	88.9	---	58.9
SG2	24	---	9.8-10.7	---	25	---	95.8	---	83.3	---	58.3
SV1	28	---	11.2-12.3	---	32.1	---	100	---	100	---	67.9
UV1	29	7.2-8	10.8-12.2	13.8	82.8	NC	100	NC	100	NC	17.2
XS1	113	7.3-9	10.6-11.6	49.6	63.7	87.6	88.5	84.2	91.7	34.6	28
XS2	41	7.7-8.1	10.8-12.5	7.3	73.2	NC	95.1	NC	75	NC	1.8
XS3	154	7.4-8.4	9.8-11.5	4.5	37	98	95.4	100	36.4	95.5	28.6
YB1	79	---	9.7-11.2	---	73.4	---	96.2	---	100	---	26.6
YB2	70	---	9.6-11.9	---	71.4	---	NC	---	NC	---	NC
ZU1	20	7.9-9.1	11.4-12.1	65	100	90	NC	71.4	NC	6.4	NC

- **Objetivo 2: Aplicar nuevas herramientas de diagnóstico genético que hagan posible la detección precoz de animales más productivos**". En la solicitud de este Grupo de Cooperación se pretendía validar y extender los resultados encontrados en dos poblaciones experimentales en relación al polimorfismo rs403212791 localizado en el gen *MTNR1A* (comercialmente conocido como GDO), y los polimorfismos del gen *LEPR* (rs412929474, rs428867159 y rs405459906), que se habían asociado con los días totales de anestro, y % de meses que las ovejas muestran al menos un celo en anestro reproductivo (Calvo et al., 2017; Lakhassassi et al., 2019), así como la del SNP rs398938610, localizado en el gen *KISS1R*, y que se ha asociado a la edad al primer parto (Iguacel et al. 2019) (año 1 y 2; Hitos 1 y 2). Debido, a que durante el periodo de desarrollo del proyecto se encontraron dos nuevas mutaciones en el gen *BMP15* asociadas a la prolificidad (Calvo et al., 2020), conocidas como Grivette (*FecX^{GR}*) y ROA2 (*FecX^{RA}*), se decidió genotipar también estas dos nuevas mutaciones. Finalmente, y gracias al desarrollo de nuevas plataformas de genotipado, nos ha permitido genotipar un panel de 192 SNPs mediante tecnología KASP (Kompetitive allele specific PCR), que incluye 163 SNPs para llevar a cabo la asignación de paternidad, y los SNPs que se plantearon en la solicitud de este Grupo de Cooperación, así como otros SNPs con implicaciones funcionales ya validados en Rasa aragonesa u otras razas (es decir que ya se había mostrado su efecto sobre diferentes fenotipos), a parte de otros SNPs en proceso de validación. Los SNPs llevados a cabo para la asignación de paternidad permiten la valoración de machos sementales de monta natural en las explotaciones incluidas en este estudio, así como mejorar la precisión de las valoraciones genéticas. Igualmente, aquellos machos que no dejan hijas de reposición se pueden eliminar como reproductores. En total se han genotipado 29 SNPs funcionales, de los cuáles 19 habían sido asociados a caracteres de interés previamente (Tabla 1), y otros 10 en proceso de validación asociados a caracteres reproductivos, principalmente prolificidad, edad al primer parto y estacionalidad reproductiva.

Tabla 1. SNPs funcionales, localización y con función conocida genotipados junto con los 163 SNPs para paternidad.

CHR	Nombre	Gen	Fenotipo	Referencia
13	rs601660229	PRNP	Scrapie clásico codón 136	Hunter et al., 1997; Acín et al., 2004
13	rs591379086	PRNP	Scrapie clásico codón 136	Hunter et al., 1997; Acín et al., 2004
13	rs598580733	PRNP	Scrapie atípico codón 141	Moum et al., 2005
13	rs605048948	PRNP	Scrapie clásico codón 154	Hunter et al., 1997; Acín et al., 2004
13	13:g.46225764A>C	PRNP	Scrapie clásico codón 171	Hunter et al., 1997; Acín et al., 2004
13	rs160575103	PRNP	Scrapie clásico codón 171	Hunter et al., 1997; Acín et al., 2004
13	rs400844237	PRNP	Scrapie clásico codón 171	Hunter et al., 1997; Acín et al., 2004
17	rs408593969	TMEM154	Susceptibilidad a la infección por Lentivirus (Maedi Visna)	Heaton et al., 2012; Sider et al., 2013
17	rs427737740	TMEM154	Susceptibilidad a la infección por Lentivirus (Maedi Visna)	Heaton et al., 2012; Sider et al., 2013
19	rs397514116	HSP90AA1	Fragmentación espermática	Salcés-Ortiz et al., 2015
26	rs403212791	MTNR1A	Estacionalidad reproductiva	Calvo et al., 2019
4	rs404360094	CD226	Estacionalidad reproductiva	Lakhssassi et al., 2021
1	rs596133197	LEPR	Estacionalidad reproductiva/Prolificidad	Lakhssassi et al., 2020
1	rs403578195	LEPR	Estacionalidad reproductiva	Lakhssassi et al., 2020
1	rs411478947	LEPR	Estacionalidad reproductiva	Lakhssassi et al., 2020
1	rs405459906	LEPR	Estacionalidad reproductiva	Lakhssassi et al., 2020
5	rs398938610	KISS1R	Edad al primer parto	Iguacel et al., 2019
9	rs410015353	DGAT1	Edad al primer parto	Lakhssassi et al., 2022
X	rs421419167	BMP15	Prolificidad/ <i>FecX^R</i> (ROA)	Martinez-Royo et al., 2007
X	X: g. 50971170C>T	BMP15	Prolificidad / <i>FecX^{GR}</i> (Grivette)	Calvo et al., 2020

X	X: g. 50970948C>T	BMP15 B4GALN	Prolificidad /FecX ^{RA} (ROA2)	Calvo et al., 2020
11	rs588626728	T2	Prolificidad/Lacaune	Drouilhet et al., 2013

El panel de 192 SNPs se ha genotipado mediante tecnología KASP (Kompetitive allele specific PCR), analizando un total de 5065 animales pertenecientes a 10 ganaderías. Además, se tomaron los caracteres productivos de los animales y diferentes efectos (edad, tipo de reproducción, mes de parto, etc.) que han sido utilizados en los estudios de asociación. El porcentaje total de asignación de paternidad fue del 76%, variando entre el 58 y el 91% de asignación entre el primer año y el tercero de análisis de resultados. En la Tabla 2 se puede ver los % de asignación por explotación, y año, así como de manera global. La falta de asignación se debió a que los posibles padres no estaban en los envíos realizados. Además, en aquellas explotaciones que se llevó a cabo la asignación de paternidad durante los 3 años se observa un incremento del porcentaje de asignación año tras año. Esto se debe principalmente a que al principio podían faltar los posibles padres (habían muerto, por ejemplo), especialmente en el primer año.

En la Tabla 3 se muestran los resultados de frecuencias de los genotipos de resistencia a scrapie clásico y atípico, destacando las altas frecuencias de los genotipos de resistencias a ambos scrapies, y la baja frecuencia de animales portadores del alelo VRQ. Para el scrapie atípico hay que resaltar que el alelo "L" asociado a una mayor resistencia a la infección por scrapie atípico y a un mayor periodo de incubación se encuentra en una frecuencia del 0,99, estando los animales homocigotos para el citado alelo en una frecuencia del 0,95. En el mismo sentido, los genotipos de resistencia a la infección por lentivirus se encontraron en una frecuencia del 0,73 (genotipo K/K), que confiere la mayor resistencia, lo que podría explicar la poca incidencia sintomatológica que presenta el MAEDI en las explotaciones de Rasa aragonesa de UPRA. Las frecuencias encontradas han sido similares a lo largo de todos los años. En los cruzamientos para dejar la reposición habría que tener en cuenta estos genotipos para dejar como reproductores a aquellos animales portadores de alelos de resistencia.

Tabla 2. Porcentaje de asignación de paternidad por explotación y año de análisis. Se indican el número animales analizados por ganadería.

Ganadería	n	% asignación total	% asignación año 1	% asignación año 2	% asignación año 3
A	268	0,40	-	0,36	0,43
B	647	0,94	0,88	0,97	0,99
C	1082	0,94	0,87	0,98	1
D	985	0,45	0,32	0,78	0,88
E	971	0,99	1	0,99	1
F	479	0,71	-	0,71	-
G	229	0,96	0,84	1	-
H	83	0,42	-	0,42	-
I	177	0,11	0,11	-	-
J	144	0,66	0,66	-	-
Total	5065	0,76	0,58	0,89	0,91

Tabla 3. Frecuencias de los diferentes genotipos de resistencia para al scrapie clásico (codones 136, 154 y 171) y atípico (codón 141), y para de resistencia a la infección por lentivirus (TMEM154).

Genotipo <i>PRNP</i> (scrapie clásico)	Frecuencia Total	Ganadería									
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
ARR/ARQ	0,40	0,40	0,27	0,36	0,45	0,39	0,4	0,49	0,47	0,38	0,50
ARR/ARR	0,30	0,48	0,67	0,28	0,39	0,21	0,2	0,24	0,32	0,41	0,38
ARQ/ARQ	0,13	0,08		0,11	0,11	0,23	0,1	0,20	0,13	0,19	0,07
ARR/AHQ	0,05	0,02	0,06	0,12	0,02	0,03	0,0	0,05	0,02		0,03
ARQ/AHQ	0,04	0,02		0,09	0,01	0,04	0,0	0,02	0,05	0,01	0,01
ARR/ARQ	0,02			0,01	0,01	0,08	0,0		0,01	0,01	0,01
AHQ/AHQ	0,01			0,02		<0,01					
ARR/AHQ	<0,01			<0,01		0,01	1				

ARH/ARH	<0,01												
AHQ/VRQ	<0,01	<0,01											
ARR/AHR	<0,01												
ARR/VRQ	<0,01												
ARQ/VRQ	<0,01												
ARH/ARK	<0,01												0,01

Genotipo <i>PRNP</i> (scrapie atípico)	Frecuencia Total	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
L/L	0,95	0,93	0,99	0,91	0,97	0,95	0,9	0,99	0,93	0,99	0,97
L/F	0,04	0,06	0,01	0,08	0,03	0,05	0,0	0,01	0,07	0,01	0,03
F/F	<0,01	<0,01		<0,01							

Genotipo <i>TMEM154</i>	Frecuencia Total	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
K/K	0,73	0,74	0,73	0,67	0,71	0,77	0,8	0,77	0,69	0,68	0,70
K/E	0,25	0,25	0,26	0,30	0,26	0,22	0,1	0,22	0,29	0,30	0,27
E/E	0,02	0,01	0,01	0,03	0,03	0,01	0,0	<0,0	0,02	0,02	0,03

En la tabla 4 se presentan los resultados de frecuencias de los genes relacionados con prolificidad, estacionalidad reproductiva y edad al primer parto. En relación con la prolificidad, se han encontrado los tres alelos asociados a prolificidad dentro del gen *BMP15* descritos en Rasa aragonesa. Estas frecuencias fueron del 0,01 para el alelo *FecX^{RA}* (*ROA2*), encontrando la mayor frecuencia en la ganadería C que presentaba un macho portador de este alelo (0,04). En cuanto al alelo *FecX^{Gr}* (*Grivette*) se encontró una frecuencia de alrededor del 0,02, y menor del 0,01 animal hiperprolífico. En este caso destaca la alta frecuencia del alelo en la explotación F (14%), que presentaba hembras varios machos portadores de la misma. Finalmente, la frecuencia del alelo *FecX^R* (*ROA*) fue de un 0,23, presentando una ganadería una frecuencia de alrededor del 0,55. Es remarcable, que la explotación F, que tiene un 14% de animales portadores del alelo Grivette, la frecuencia del alelo ROA fue inferior al 0,01. Es destacable que se encontraron animales dobles heterocigotos para ROA y Grivette, y Grivette y ROA2, que en un trabajo previo ya demostramos que eran animales prolíficos, y no estériles. Finalmente, también se localizaron animales dobles heterocigotos ROA y ROA2. A uno de estos animales, de más de 3 años y sin partos registrados, se le realizó un estudio laparoscópico de su aparato reproductor demostrando que era estéril con ovarios hipoplásicos y cuernos uterinos poco desarrollados (infantilismo). Este fenotipo es idéntico al encontrado para los animales homocigotos para ROA, por lo que podemos suponer que los animales dobles heterocigotos ROA y ROA2 son estériles, aunque habría que demostrarlo en una muestra mayor de hembras. Por otra parte, durante el último año se han llevado a cabo estudios de asociación para los caracteres prolificidad, edad al primer parto y estacionalidad reproductiva. El fenotipo utilizado fue el valor genético de la prolificidad, el fenotipo corregido de la edad al primer parto (corregido por los factores conocidos: pedigree, rebaño, año, estación) y el fenotipo corregido de la estacionalidad reproductiva utilizando un modelo umbral (pedigree, rebaño y año). Se llevó a cabo un análisis GWAS utilizando los 192 SNPs del panel, y un modelo mixto que incluía la matriz de relaciones genómicas con el programa GCTA. Una vez filtrados los datos, eliminando animales con datos faltantes y llevando a cabo un control de calidad de los SNPs básicos, nos quedamos con 4100, 3716 y 4100 animales para los fenotipos prolificidad, edad al primer parto y estacionalidad reproductiva, respectivamente. En el caso de la estacionalidad reproductiva se eliminaron aquellos animales con menos de 300 días y más de 600 días en la edad al primer parto, evitando así errores en la toma del dato. En relación a la prolificidad el análisis GWAS la mutación Grivette y un SNP del *LEPR* (rs596133197) resultaron significativos (Tabla 5). Debido a que, en la valoración genética de la prolificidad, el alelo ROA es incluido como efecto fijo para evitar su influencia en la misma (está en alta frecuencia en la población), este no fue significativo en el análisis GWAS. Igualmente, el alelo ROA2, tampoco resultó significativo, pero esto fue seguramente debido a que su frecuencia fue inferior al 0,5% en la población analizada para el estudio de asociación. Posteriormente, se estudió el efecto, calculado las Lsmeans e incluyendo en el modelo el rebaño, año, mes, número de parto, modo de cubrición y los SNPs para *LEPR*, Grivette y ROA (Tabla 6).

Tabla 4. Frecuencias de los diferentes asociados a prolificidad en el gen *BMP15* (alelo *FecX^R*/*ROA*, alelo *FecX^{RA}*/*ROA2*, alelo *FecX^{Gr}*/*Grivette*, *LEPR* - rs596133197), estacionalidad reproductiva (*MTNR1A* y *LEPR*), y edad al primer parto (*DGAT1*) en Rasa Aragonesa.

Prolificidad	
Frecuencia Total	Ganadería

Genotipo BMP15 (alelo FecX^R/ROA)		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
N/N	0,76	0,74	0,76	0,99	0,78	0,44	0,99	0,52	0,65	0,99	0,92
FecX ^R /N (prolíficas)	0,23	0,26	0,24	0,01	0,22	0,55	<0,01	0,46	0,35	0,01	0,08
FecX ^R / FecX ^R (estériles)	<0,01					0,01		0,02			
Genotipo BMP15 (alelo FecX^{RA}/ROA2)		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
N/N	0,99	0,99	0,98	0,96	0,99	1	1	1	1	1	0,98
FecX ^{RA} /N (prolíficas)	0,01	<0,01	0,02	0,04	<0,01						0,02
Genotipo BMP15 (alelo FecX^{Gr}/Grivette)		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
N/N	0,97	0,98	0,99	0,99	0,98	0,99	0,85	1	1	1	0,88
FecX ^{Gr} /N (prolíficas)	0,02	0,02	1	0,01	0,01	<0,01	0,14				0,11
FecX ^{Gr} /FecX ^{Gr} (Hiperprolífica)	<0,01			<0,01			0,01				0,01
Genotipo LEPR (rs596133197)		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
N/N	0,89	0,84	0,88	0,87	0,95	0,81	0,99	0,99	0,92	0,97	0,97
ProL+/N (prolíficas)	0,10	0,15	0,11	0,12	0,04	0,18	0,01	<0,01	0,08	0,03	0,03
ProL+/ProL+ (muy prolíficas)	<0,01	0,01	1	<0,01	<0,01	0,01					
Estacionalidad reproductiva											
Genotipo MTNR1A (GDO)		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
N/N	0,49	0,44	0,44	0,55	0,46	0,63	0,30	0,37	0,57	0,64	0,35
N/D	0,41	0,45	0,44	0,38	0,43	0,31	0,52	0,48	0,39	0,32	0,51
D/D	0,10	0,11	0,12	0,07	0,11	0,06	0,18	0,15	0,04	0,04	0,14
Genotipo LEPR (rs403578195)		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
N/N	0,95	0,88	0,98	0,99	0,94	0,98	0,97	0,86	0,99	0,93	0,92
N/E	0,04	0,11	0,02	<0,01	0,05	0,02	0,03	0,14	0,01	0,07	0,08
E/E	<0,01	<0,01		<0,01							
Genotipo LEPR (rs405459906)		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
N/N	0,81	0,74	0,82	0,87	0,77	0,77	0,92	0,73	0,75	0,74	0,75
N/E	0,18	0,25	0,17	0,12	0,22	0,21	0,07	0,24	0,23	0,24	0,24
E/E	0,01	0,01	0,01	<0,01	<0,01	0,02	<0,01	0,03	0,02	0,02	0,01
Edad al primer parto		Frecuencia ganaderías									
Edad al primer parto		Frecuencia total									
DGAT1		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
CC	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,96	1	0,94	1	1	1
TC	0,01	0,01	1	0,01	0,01	0,04		0,06			
TT											

N=normal; D= alelo asociado a una disminución de los días de anestro estacional; E=alelo asociado a un incremento de los días de anestro estacional; T= alelo asociado a un incremento de la edad al primer parto.

Tabla 5. Estudio de asociación genómica GWAS usando GCTA. Cr: cromosoma; SNP: identificación del SNP; A1: alelo en baja frecuencia (MAF); A2: alelo alternativo; b: efecto de sustitución alélica; ES: error estándar; p: p valor; p_bonf: p valor tras corrección de bonferroni; Gen: Gen donde está situado el SNP

Cr	SNP	A1	A2	Frecuencia (MAF)	b	ES	p	p_bonf	Gen
1	rs596133197	T	C	0,045	0,021	0,004	2,50E-07	5,04E-05	LEPR
X	FecX ^{Gr}	T	C	0,015	0,034	0,006	3,61E-07	7,29E-05	BMP15

Tabla 6. Lsmeans para los diferentes genotipos de los SNPs LEPR (rs596133197), FecX^{Gr} y FecX^R. Entre paréntesis se indica el número de partos controlados para cada genotipo.

Gen	Genotipo		
LEPR	CC (12380)	TC (856)	TT (18)
	2,0566 ± 0,21a, c	2,1425 ± 0,21b	2,6589 ± 0,21a,d
FecX ^{Gr}	CC (13206)	TC (422)	TT (2)
	2,0492 ± 0,12e	2,2191 ± 0,13f	2,5898 ± 0,58

FecX^R
Normal (12070)
ROA (3595)

2,0801 ± 0,22e

2,492 ± 0,22f

a,b <0,05; c,d < 0,01; e,f <0,001

Hay que resaltar, que la población analizada tiene un 28,3% de ROAs, y el efecto de ROA en esta población es de +0,41 ($p < 0,0001$). El efecto de la Grivette es más modesto que el encontrado anteriormente; +0,17 ($p = 0,0005$) frente al +0,52 en la primera estimación que se hizo, en la que se compararon toda la base de datos con los animales genotipados (353,172 partos normales vs 231 portadores- Calvo et al.,2020- mientras que ahora son 13206 vs 422 partos). Sólo hay dos animales y dos partos de homocigotos con un efecto de + 0,54, pero no sale significativo. Finalmente, el SNP del *LEPR*, tiene un efecto modesto en heterocigosis +0,086 ($p = 0,0107$), mientras que en homocigosis su efecto es +0,60 ($p = 0,0063$), aunque aquí hay que resaltar que sólo hay 18 partos de 8 animales. De esta forma el SNP de la *LEPR* es una herramienta nueva para la selección asistida por marcadores, basadas en este genotipo. En la Tabla 4 se puede observar que la frecuencia de los animales portadores del alelo prolífico para el SNP del *LEPR* es del 10%, de forma que se podría incrementar la frecuencia del mismo en alguna ganadería que quisiese incrementar la prolificidad pero sin incrementar demasiado el número de partos múltiples.

En relación con la estacionalidad reproductiva los genotipos asociados con la reducción de la estacionalidad (en el gen *MTNR1A*), y con incremento de la misma (en el gen *LEPR*), se encuentran en baja frecuencia, de forma que se podría seleccionar como reproductores animales con el genotipo que presenta ventajas reproductivas para el gen de la *MTNR1A* (D/D; GDO), aumentando su frecuencia en la población. De igual manera, habría que eliminar aquellos genotipos del gen *LEPR* asociados con un efecto negativo, y que están en baja frecuencia, como futuros reproductores (Tabla 4). La frecuencia del genotipo D/D en torno al 10% indica que podríamos aumentar aún la frecuencia de la misma mediante la selección de reproductores con este genotipo.

En relación a la edad al primer parto, el análisis GWAS mostró un único SNP significativo tras corrección de Bonferroni, el SNP rs410015353, localizado en el exón 17 de la *DGAT1* que produce un cambio aminoacídico en el exón 17 del gen (ENSOARP00000015100.1:p.Arg490Cys), y que tiene impacto en la estructura/función de la proteína según el software Polyphen (valor de 0,676), pero predicha como tolerable por SIFT (valor SIFT 0,11). Este SNP ha sido genotipado en 3716 animales, estando únicamente en 69 animales en heterocigosis y en 0 animales en homocigosis para el alelo T (el que tiene un efecto que podría afectar a la proteína). La *DGAT1* tiene efecto en la cantidad de grasa en leche y perfil de AG pero también en ovino de carne se ha asociado a engrasamiento (IMF), peso vivo, grosor de grasa dorsal, peso de la espalda, peso de la cola grasa y condición corporal. Es decir, quizás el efecto encontrado en esta mutación está relacionado con que el animal en heterocigosis tarde más en alcanzar el peso adulto, porque la enzima que codifica el gen no funciona bien. También hay pocos animales heterocigotos, es decir podría ser una asociación espuria, aunque el efecto encontrado es de 75 días más los animales heterocigotos en relación a los homocigotos. De esta forma habría que evitar incluir estos animales portadores como reproductores. En la Tabla 4 se puede observar que este genotipo se encontró en la población en una frecuencia alrededor del 1%. Nuestros estudios mostraron que el SNP situado en el gen *KISS1R* no se asoció con la edad al primer parto, por lo que se desechó su posible uso en la selección asistida por marcadores.

Objetivos alcanzados (si no se han alcanzado los objetivos esperados, indicarlo):

Se han alcanzado los objetivos esperados teniendo datos suficientes como para seguir en la línea de investigación y/o de transferencia de estas tecnologías en las ganaderías de ovino de carne de razas autóctonas en Aragón y otras comunidades autónomas.

Descripción de los potenciales beneficiarios de los objetivos alcanzados (p.e.: regantes, ganaderos de ovino, industrias conserveras...):

- Ganaderos de ovino de carne de Aragón principalmente productores de Rasa Aragonesa que es donde se han validado los genotipos y espectros NIRS y potencialmente ganaderos de otras razas locales de Aragón o de otras comunidades.
- Asociaciones de productores de otras razas que utilicen este esquema de trabajo como modelo de sostenibilidad a través de la implementación de herramientas reproductivas y genéticas en los esquemas de selección.

Conclusiones del proyecto (éxito o fracaso del proyecto y motivos, si es aplicable en el sector al que va dirigido, si debe tener continuidad, etc.):

- Consideramos que el proyecto ha permitido dar un paso más en el camino de la selección genética de los animales más sostenibles en explotaciones de Rasa Aragonesa.
- Esto va a ser aplicable a este colectivo, pero también a Razas autóctonas de territorio aragonés como son la Roya Bilbilitana, la Maellana, la Cartera....
- La elección de los animales más productivos y eliminación o no selección de aquellos que no producen, producen menos o requieren más recursos para ello, es el camino para mejorar la rentabilidad económica de las explotaciones al tiempo

que se reduce el impacto ambiental de nuestras ganaderías. Fomenta la profesionalización del sector y acerca la tecnología a la producción ovina, lo que conlleva la integración y mayor apreciación social dentro y fuera del entorno ganadero.

Indicar los medios de divulgación de los resultados obtenidos (publicaciones, manual de buenas prácticas, recomendaciones, folletos divulgativos, página web u otros):

- ☞ <https://araid.es/es/content/convenio-grupo-de-coperaci%C3%B3n-arag%C3%B3n-aplicaci%C3%B3n-de-nuevas-herramientas-reproductivas-y>
- ☞ <https://www.cita-aragon.es/proyecto/grupo-de-cooperacion-vageso-aplicacion-de-nuevas-herramientas-reproductivas-y-geneticas-para-mejorar-la-sostenibilidad-del-ovino-de-carne-aragones/>
- ☞ <https://oviaragon.com/proyectos/>
- ☞ Jornadas de formación de ganaderos de alto rendimiento. UPRA Oviaragón. CITA. 28/10/2019 (pdf)
- ☞ Boletín Oviaragón agosto 2020 (Artículo y entrevista): “Aplicación de nuevas herramientas reproductivas y genéticas para mejorar la sostenibilidad del ovino de carne aragonés. GCP-2019-0038-00 (VAGESO) (pdf)
- ☞ Blog Oviaragón 08septiembre2020- Premio Martín Peinado 2020 (pdf)
<https://oviaragon.com/premio-martin-peinado-2020/>
- ☞ VI Jornada formativa del Equipo Veterinario Oviaragón de 2020.20/10/2020. Asesoría en la mejora de la productividad de las ganaderías de ovino de carne en UPRA Oviaragón a través de las variantes genéticas. Jorge H. Calvo. Investigador del CITA
<https://zoom.us/j/91936427819>
- ☞ 20/10/2020.- VI jornada formativa EVO DE 2020 “Asesoría en herramientas mejora productividad. “Variable génica” por D. Jorge H. Calvo investigador de ARAID y miembro del grupo.
- ☞ 6/10/2021.-VII jornada formativa EVO DE 2020 “Gestión Técnico-Económica: Evolución, mejores y peores; Función de Beneficio y Resultados RENGRAI. “Luis Pardos (E.U.P. Universidad de Zaragoza)
- ☞ FEMOGA 2021_16/09/2021- “La mejora que nos llega del trabajo de selección en los rebaños de ovino de carne...” por M^a Angeles Jiménez (Genetista INIA) <https://oviaragon.com/conclusiones-jornadas-tecnicas-rasa-aragonesa-femoga/>
- ☞ FIGAN 2021_23/09/2021 - “III Jornadas “Retos en la Mejora Genética del ovino de carne”
<https://oviaragon.com/jornada-upra-y-angra-pac-videos/>
- ☞ CEDRILLAS_30/09/2021 -” Variantes de prolificidad, una alternativa para mejorar la productividad de las razas ovinas de Teruel” Por Jorge H. Calvo <https://oviaragon.com/actos-feria-cedrillas-2021/>
- ☞ FEMOGA 2022 Jornadas Técnicas sobre la ganadería del siglo XXI

Ponencia: **¿Qué efecto real tienen los rumiantes en el cambio climático? ¿Qué podemos hacer para mejorar esto?** A cargo de Agustín del Prado (Investigador del Centro de Estudios Vascos para el Cambio Climático (BC3). Leioa, Vizcaya).

Ponencia: **¿Cómo buscamos los animales más eficientes con el trabajo de selección genética?** A cargo de M^a Angeles Jiménez Hernando (Genetista del INIA – CSIC).

Ponencia: **¿Nos va a permitir avanzar más la genómica para la localización y selección de animales más eficientes en la emisión de gases de efecto invernadero?** A cargo de Jorge H. Calvo Lacosta (Doctor en veterinaria. Investigador en Genética Molecular ARAID-CITA).

19:30- 20:00 H. Debate **¿Qué podemos hacer como sector ganadero para mejorar esto?**

<https://oviaragon.com/femoga-2022-jornada-tecnica/>

<https://www.interempresas.net/ovino/Articulos/397951-Rumiantes-y-cambio-climatico-se-analizaran-en-XXV-Jornada-para-Ganaderia-del-Siglo-XXI.html>

https://www.losmonegros.com/asp/noticias_detalle.asp?Cod=3305

<https://ne-np.facebook.com/613120532430573/posts/d41d8cd9/1365425883866697/>

<https://www.femoga.com/vii-jornada-sobre-ganado-porcino-del-siglo-xxi/>

Retransmisión de la jornada en streaming desde el canal de YouTube

https://www.youtube.com/watch?v=Wq_PkNsXHyU

Artículo divulgativo resumen de la jornada

<https://oviaragon.com/ni-ajenos-ni-alarmistas/>

☞ ROO UP para la divulgación del proyecto y del trabajo realizado, en ferias, reuniones con ganaderos y stands o exhibiciones

En ...ZARAGOZA.... a...10 de ...octubre de 2022

Fdo (el coordinador del grupo de cooperación):ENRIQUE FANTOVA PUYALTO.....