



## CRUPO MEGA\_ULE

### Mejora Genética animal (Universidad de León)

**Actividades desarrolladas dentro del grupo operativo "MEJORA DE ASPECTOS REPRODUCTIVOS DE EXPLOTACIONES OVINAS DE CASTILLA Y LEÓN"**  
Expte: 001958/G02

**Actividad desarrollada:**

#### ***ESTIMACIÓN DE PARÁMETROS GENÉTICOS PARA CARACTERES DE CALIDAD SEMINAL EN EL GANADO OVINO DE APTITUD LECHERA.***

##### *1. Antecedentes*

España es el segundo país de la Unión Europea con mayor número de cabezas de ganado ovino, con una población de hasta 16 millones en 2018 (datos de FAOSTAT, 2018). Las explotaciones de ovino lechero son un factor esencial para el mantenimiento del desarrollo rural mediante sistemas de producción sostenibles y respetuosos con el medio ambiente, que proporcionan una amplia diversidad de productos de alta calidad, como los quesos puros elaborados artesanalmente y la carne de cordero lechal <sup>1</sup>. Durante muchos años, la producción de leche de oveja en España se ha centrado en la explotación extensiva de las razas ovinas autóctonas, como es el caso de la oveja Churra (Foto 1). Se trata de una oveja rústica de las más primitivas de la península, perteneciente al tronco Churro. Forma parte del grupo de razas autóctonas más importantes de España, por su alta especialización en la producción de leche y por su elevado censo. Se encuentra localizada en la Submeseta norte del centro peninsular, y más concretamente en el valle del Duero, coincidiendo en gran medida con la Comunidad autónoma de Castilla y León. Sin embargo, en los últimos 20 años, algunas razas ovinas de aptitud lechera extranjeras como Assaf, Awassi y Lacaune, están sustituyendo en cierta medida a las razas locales tanto en las explotaciones semi-intensivas como en las intensivas <sup>2</sup>, debido a su mayor rendimiento lechero. En particular, la raza Assaf (Foto 2), es la raza que tiene el mayor impacto en la industria de ovejas lecheras de España y Portugal <sup>3</sup>.



Foto 1: [fittu.es](http://fittu.es)



Foto 2: [ovigen.es](http://ovigen.es)

En cualquier caso, la mejora genética para la producción de leche se realiza por las correspondientes asociaciones de criadores, a través de programas oficiales de cría, en los que la inseminación artificial (IA) se convierte en una herramienta fundamental para la prueba de la progenie. La IA desempeña un papel importante porque está directamente relacionada con la fertilidad y, además, es la principal herramienta reproductiva utilizada para la mejora genética, mediante la introducción de genes en los rebaños de sementales superiores <sup>4</sup>. Para ello, es importante estudiar las características de la producción y la calidad del semen. El número de dosis producidas en el eyaculado del carnero depende



del volumen, la concentración y la motilidad de los espermatozoides, que a la vez, se ven afectados principalmente por factores ambientales y genéticos <sup>5</sup>. Para aumentar la eficiencia de los centros de IA del ovino lechero, se requieren estudios centrados en la evaluación de los factores ambientales que afectan a la producción de semen, y, además, estimar parámetros genéticos para la producción y calidad del mismo.

La estimación de parámetros genéticos es relevante no sólo para evaluar la posibilidad de la mejora genética de los diferentes caracteres, sino también para comprender las interacciones entre los diferentes rasgos de interés y, por lo tanto, ayudar a definir la estrategia de selección más eficiente y evitar consecuencias no deseadas de la selección. En el ganado bovino, diferentes autores han hallado heredabilidades moderadas en algunos caracteres seminales <sup>4,6</sup>, lo que sugiere la posibilidad de mejora genética no sólo para los caracteres reproductivos masculinos, sino también para los femeninos, que por lo general son difíciles de mejorar mediante la selección directa <sup>7</sup>. En el caso del ganado ovino, aunque los estudios son limitados, la estimación de parámetros genéticos en caracteres de calidad seminal en carneros de diferentes razas ha mostrado una amplia variación <sup>5,8,9</sup>, resaltando la importancia de estudiar estos caracteres específicamente en cada raza. Tal y como demuestran diferentes estudios realizados en otras especies, la cantidad y calidad del semen son los principales factores que afectan a la fertilidad de los sementales <sup>10</sup>. En este sentido, los criterios para la selección del carnero no deberían centrarse exclusivamente en los caracteres de producción, sino que, podría ser muy interesante estudiar algunos parámetros seminales de interés.

## 2. Descripción de la investigación y Objetivos

El objetivo fundamental de nuestra actividad es contribuir al conocimiento de las bases genéticas de los caracteres de calidad seminal en los animales de la especie ovina de aptitud lechera utilizados en la Inseminación artificial (IA) en Castilla y León. Para ello se ha analizado la base de datos de recolecciones seminales mantenida por el Centro de selección y mejora genética de ovino y caprino de Castilla y León. Además, como objetivo complementario hemos podido disponer de las bases de datos de las razas ovinas autóctonas de aptitud lechera del País Vasco a través de *Confelac* y de Castilla-La Mancha a través del *Cersyra* de Valdepeñas, con objeto de comparar la aptitud de las razas de Castilla y León con el resto de razas del territorio nacional.

## 3. Metodología

Para este trabajo, partimos de una población de 424 carneros de la raza Assaf (ASS), 497 de la raza Churra (CHU), 685 de la raza Latxa Cara Negra (LCN), 653 de la raza Latxa Cara Rubia (LCR) y 1.228 carneros de la raza Manchega (MAN). Los registros de producción de semen medidos en las cinco razas fueron proporcionados por tres centros de IA: *Ovigen* (Centros de Selección y Cría de Ovinos y Caprinos de Castilla y León) para las razas CHU y ASS; *Ardiekin, S.L.* para las razas LCN y LCR; y *Cersyra* (Centros Regionales de Reproducción y Cría de Castilla-La Mancha) para la raza MAN.

De acuerdo con el programa de mejora de las diferentes razas estudiadas, cierto número de machos jóvenes (descendientes de las mejores ovejas de rebaños genéticamente conectados y de los mejores carneros del centro de IA) se incorporan al centro de IA cada año. Después de un proceso de entrenamiento para la recolección de semen, los machos jóvenes que no muestran problemas de monta y que, además, estén libres de ciertas enfermedades, serán utilizados como donantes de semen. En cada centro de IA, se



recogieron medidas de los caracteres seminales de interés durante la recolección rutinaria de semen por vagina artificial y se prepararon las dosis para la IA. Todos los eyaculados fueron recogidos por el mismo equipo de trabajadores en cada uno de los tres centros de IA. Se recogió un primer eyaculado (todos los carneros de las razas analizadas en este trabajo realizaron al menos un salto) y posteriormente un segundo eyaculado obtenido en un periodo de 2 a 5 minutos desde el primer salto (en este caso, en todas las razas excepto en MAN, ya que estos carneros normalmente sólo realizan un salto al día). Todos los eyaculados fueron evaluados inmediatamente después de la recolección, y se estudiaron tres parámetros de rutina como son el *Volumen* en ml (*VOL*), la *Concentración espermática* (SPZ/ml) (*SC*) y la *Motilidad masal* midiéndose como una escala de puntuación continua, basada en el movimiento ondulatorio que va desde 1, sin movimiento, a 5, numerosas ondas rápidas y vigorosas, (*MOT*). Tras depurar los datos (eliminando todos los eyaculados con motilidad inferior a 3 y a los animales cuyo rango de edad no oscilaba entre los 10 y 150 meses), nos quedamos con un total de 19.938 datos en ASS, 13.789 en CHU, 16.342 en LCN, 15.086 en LCR y 31.637 registros en MAN, para el primer salto (**Tabla 1**). Asimismo, el número de eyaculados para el segundo salto fue de 5.223, 5.254, 1.838 y 875, correspondientes a las razas ASS, CHU, LCN y LCR respectivamente (datos no mostrados). Finalmente, las diferentes asociaciones nos facilitaron la información del pedigrí y para los análisis posteriores utilizamos todas las generaciones conocidas, generando una matriz de parentesco total de 1.969, 3.902, 3.866, 3.089, y 3.202 individuos en las razas ASS, CHU, LCN, LCR, y MAN, respectivamente.

En primer lugar, se realizó un modelo lineal general (GLM) con el software R <sup>12</sup> para evaluar la influencia de cuatro factores fijos (el rebaño de nacimiento, la combinación de los efectos estación-año de la recolecta, la edad del macho a la recolecta y el número de saltos consecutivos) sobre los caracteres seminales a estudiar. Teniendo en cuenta que la mayoría de los efectos estudiados fueron altamente significativos ( $p < 0,001$ ) desde el punto de vista estadístico, todos fueron incluidos en la posterior estimación de los parámetros genéticos.

**Tabla 1.** Estadística descriptiva de los caracteres seminales analizados en las cinco razas ovinas de aptitud lechera estudiadas para el salto 1.

Carácter / Raza	Nº carneros	Nº registros	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
<b><i>VOL</i></b>						
ASS	424	19.938	1,36	0,54	0,1	4,7
CHU	497	13.787	1,02	0,39	0,1	3,7
LCN	685	16.342	0,99	0,35	0,3	3,4
LCR	653	15.086	0,97	0,34	0,3	3,0
MAN	1.228	31.637	1,02	0,38	0,1	3,5
<b><i>SC</i></b>						
ASS	424	19.892	4.163,44	1.320,50	121	9.701
CHU	497	13.754	4.031,71	1.245,15	201	9.999
LCN	685	16.342	3.844,51	667,54	2.355	6.304
LCR	653	15.086	3.625,02	642,06	2.353	6.019
MAN	1.228	31.637	4.513,80	923,20	970	8.540
<b><i>MOT</i></b>						
ASS	424	19.938	4,87	0,39	3	5
CHU	497	13.789	4,82	0,43	3	5
LCN	685	16.342	4,86	0,06	4	5
LCR	653	15.086	4,85	0,06	4	5
MAN	1.228	31.637	3,61	0,44	3	5



Nota. ASS: Assaf; CHU: Churra; LCN: Latxa Cara Negra; LCR: Latxa Cara Rubia; MAN: Manchega. VOL: volumen del eyaculado (mL); SC: concentración espermática ( $\times 10^6$  espermatozoides/mL); y MOT: motilidad masal (0–5).

Por lo tanto, a partir de los controles de rendimiento de los tres caracteres seminales de interés (*VOL*, *SC* y *MOT*), y conociendo la genealogía de los ejemplares en control, se estimaron los componentes de (co) varianza y los parámetros genéticos (heredabilidades y correlaciones genéticas) de los mismos. Los análisis se llevaron a cabo partiendo de un modelo animal multicaracter usando el método *REML* (*restricted maximum likelihood*) de la familia de programas BLUPF90<sup>13</sup>. El modelo genético utilizado fue:

$$Y_{ijklmn} = F_i + SY_j + AC_k + J_l + RPE_m + a_n + r_{ijklmn}$$

dónde:  $Y_{ijklmno}$  es el carácter lineal analizado (*VOL*, *SC* y *MOT*);  $F_i$  es el efecto fijo rebaño de nacimiento (ASS = 51 clases, CHU = 62, LCN = 81, LCR = 60 y MAN = 96);  $SY_j$  es el efecto fijo combinado de la estación (siguiendo la clasificación establecida por<sup>14</sup> y el año de recolección del eyaculado (ASS = 41, CHU = 39, LCN = 57, LCR = 57, y MAN = 15 clases);  $AC_k$  es el efecto fijo edad del macho a la colecta (5 clases en todas las razas) divididas de la siguiente forma: clase 1, carneros de 10 a 24 meses, clase 2 de 25 a 36 meses, clase 3 de 37 a 48, clase 4, de 49 a 60 y la clase 5 de 60 meses en adelante;  $J_l$  es el efecto fijo número de saltos consecutivos, que en ASS, CHU, LCN y LCR tuvo 2 niveles (salto 1 y salto 2). En la raza MAN los carneros saltan una sola vez al día, por lo que en el modelo se consideró el intervalo entre saltos consecutivos expresado en días (de 1 a 8);  $RPE_m$  es el efecto ambiental permanente aleatorio (ASS = 1 a 424, CHU = 1 a 497, LCN = 1 a 685, LCR = 1 a 655 y MAN = 1 a 1.228);  $a_n$  es el efecto aleatorio genético aditivo del animal (ASS = 1.969, CHU = 3.902, LCN = 3.866, LCR = 3.089 y MAN = 3.202); y  $r_{ijklmn}$  es el efecto residual aleatorio.

Finalmente, se llevó a cabo un tercer análisis. Teniendo en cuenta que la variabilidad de las mediciones realizadas sobre un mismo carácter sólo puede atribuirse a errores debidos al propio proceso de medición, consideramos oportuno calcular la repetibilidad para los tres caracteres seminales estudiados en cada una de las razas. Por lo tanto, considerando los diferentes componentes de la varianza fenotípica previamente estimada a través del modelo multicarácter, se calculó la estimación de la repetibilidad para los diferentes caracteres de la siguiente manera:

$$\frac{\sigma_a^2 + \sigma_{RPE}^2}{\sigma_p^2},$$

dónde:  $\sigma_a^2$  y  $\sigma_{RPE}^2$  son las varianzas genéticas aditivas y la varianza del efecto ambiental permanente, respectivamente, y  $\sigma_p^2$  es la varianza fenotípica descrita como el sumatorio de las varianzas genética aditiva, la del efecto ambiental permanente y la varianza residual.

#### 4. Resultados y discusión

Los principales resultados de nuestro trabajo se presentan en la **Tabla 2**. Las razas ASS, LCR y MAN mostraron un patrón de heredabilidades similares, siendo el carácter *SC* el más heredable (0,20, 0,11 y 0,15, respectivamente), seguido del carácter *VOL*. En la raza CHU, el carácter *VOL* fue el más heredable (0,20) siendo a su vez la estimación de heredabilidad más alta encontrada en este trabajo, y por último, la raza LCN mostró



tendencias similares a la raza CHU, aunque con valores más bajos, siendo de nuevo el carácter *VOL* el que mayor heredabilidad tuvo (0,16) dentro de esta raza. De forma global, el carácter *MOT* fue el menos heredable en todas las razas analizadas en este trabajo.

**Tabla 2.** Heredabilidades (en la diagonal y en negrita), correlaciones genéticas (por encima de la diagonal), y la repetibilidad (R) de los tres caracteres seminales analizados en las cinco razas ovinas de aptitud lechera estudiadas. Entre paréntesis se muestra el error estándar.

Raza	Carácter	VOL	SC	MOT	R
ASS	<i>VOL</i>	<b>0,12 (0,04)</b>	-0,25 (0,25)	-0,33 (0,92)	0,211 (0,02)
	<i>SC</i>		<b>0,19 (0,05)</b>	0,20 (0,65)	0,270 (0,02)
	<i>MOT</i>			<b>0,03 (0,03)</b>	0,197 (0,01)
CHU	<i>VOL</i>	<b>0,20 (0,04)</b>	0,02 (0,20)	-0,12 (0,20)	0,291 (0,02)
	<i>SC</i>		<b>0,18 (0,05)</b>	0,34 (0,21)	0,303 (0,02)
	<i>MOT</i>			<b>0,11 (0,03)</b>	0,151 (0,01)
LCN	<i>VOL</i>	<b>0,16 (0,04)</b>	-0,20 (0,36)	0,37 (0,50)	0,251 (0,02)
	<i>SC</i>		<b>0,10 (0,04)</b>	-0,04 (0,87)	0,296 (0,02)
	<i>MOT</i>			<b>0,03 (0,02)</b>	0,096 (0,01)
LCR	<i>VOL</i>	<b>0,08 (0,03)</b>	-0,71 (0,44)	-0,37 (2,05)	0,252 (0,02)
	<i>SC</i>		<b>0,11 (0,04)</b>	0,06 (0,81)	0,304 (0,02)
	<i>MOT</i>			<b>0,01 (0,01)</b>	0,077 (0,01)
MAN	<i>VOL</i>	<b>0,11 (0,05)</b>	-0,49 (0,13)	-0,29 (0,18)	0,268 (0,01)
	<i>SC</i>		<b>0,15 (0,06)</b>	0,32 (0,16)	0,287 (0,01)
	<i>MOT</i>			<b>0,03 (0,03)</b>	0,079 (0,01)

Nota. ASS: Assaf; CHU: Churra; LCN: Latxa Cara Negra; LCR: Latxa Cara Rubia; MAN: Manchega. VOL: volumen del eyaculado (mL); SC: concentración espermática ( $\times 10^6$  espermatozoides/mL); y MOT: motilidad masal (0-5).

En general, las estimaciones de las heredabilidades obtenidas en este estudio, fueron similares a las descritas por otros autores <sup>5,6</sup>, pero en la literatura, también se puede encontrar grandes diferencias en las heredabilidades de los caracteres estudiados. Por ejemplo, para el carácter *MOT* que en nuestro trabajo resultó ser el menos heredable de todos los caracteres seminales estudiados, en razas ovinas etíopes, fue el carácter más heredable (0,32), superando al resto de caracteres analizados (*VOL* y *SC*) <sup>9</sup>. Por lo tanto, las estimaciones halladas en el presente estudio y la variabilidad encontrada en diferentes razas y especies, indicaron que hay posibilidad de mejora genética para los caracteres de calidad seminal mediante la cría selectiva.

Con respecto a las correlaciones genéticas halladas en este trabajo, sólo las estimadas en la raza MAN mostraron una fiabilidad aceptable, ya que en el resto de razas, los errores estándar fueron muy elevados. Por lo tanto, en la raza MAN, se encontraron correlaciones genéticas moderadas y negativas entre los caracteres *VOL* y los otros dos (-0,49 y -0,29 con *SC* y *MOT*, respectivamente), mientras que entre los caracteres *SC* y *MOT*, la correlación fue moderada y positiva (0,32). Es de vital importancia comprender la relación entre los diferentes caracteres seminales, para el desarrollo eficiente de estrategias de selección dirigidas a la mejora genética de los mismos. En cualquier caso, desde un punto de vista práctico, antes de considerar la mejora de estos caracteres mediante la selección, sería necesario estimar las correlaciones genéticas entre los caracteres de calidad seminal y los actuales objetivos de selección de los programas de cría de estas razas, que se centran principalmente en los caracteres relacionados con la producción lechera.





Por último, y como se puede ver en la **Tabla 2**, también se hallaron los valores de repetibilidad para cada uno de los caracteres en las cinco razas. El carácter **SC** mostró el valor de repetibilidad más alto en todas las razas estudiadas, pero los valores encontrados en este trabajo fueron inferiores a los estimados en otras razas ovinas<sup>15</sup> y bovinas<sup>16,17</sup>. Recordemos que la repetibilidad es una medida estadística de la consistencia entre medidas repetidas de un mismo carácter en un mismo individuo. En teoría, un valor de R mayor a 0,70 puede considerarse repetible, aunque para poder tomar ese carácter como verdaderamente fiable, deberíamos obtener repetibilidades mayores a 0,90<sup>18</sup>. Por lo tanto, nuestros resultados sugieren que los primeros registros de recolección del semen no serán buenos indicadores del futuro rendimiento reproductivo de los carneros de IA.

## 5. Conclusiones finales

Nuestro estudio presentó heredabilidades de bajas a moderadas en caracteres de calidad seminal de interés, indicando que la mejora puede lograrse mediante la selección genética. Además, debido a la relevancia que tiene el carácter **MOT** en la fertilidad de las ovejas, consideramos que si la correlación positiva moderada alcanzada aquí y por otros autores entre los caracteres **SC-MOT** se confirma en estudios futuros, el rasgo **MOT** podría mejorarse mediante la selección indirecta a través del carácter **SC** cuyas heredabilidades fueron de las más altas del estudio. Finalmente, teniendo en cuenta la dificultad para comprender plenamente las relaciones genéticas entre los caracteres de calidad del semen sobre las bases de datos ya existentes (estudios prospectivos), los esfuerzos futuros deberían centrarse en diseñar específicamente experimentos que maximicen el control de los factores ambientales que influyen en estos caracteres.

## 6. Perspectivas futuras y líneas de investigación en desarrollo

La estimación de parámetros genéticos es relevante para la mejora genética de los caracteres relacionados con la calidad y la producción del semen. Sin embargo, la heredabilidad hallada para estos caracteres (entre bajas y moderadas), unido al hecho de que estos datos solo se recogen en un número limitado de machos (carneros de centros de IA), hacen que la selección convencional no sea completamente eficaz para mejorarlos<sup>19</sup>.

Actualmente, las herramientas genómicas, como los chips de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) de media y alta densidad, podrían ayudar a identificar las regiones genómicas asociadas a estos rasgos seminales de baja y moderada heredabilidad. En genética, un **estudio de asociación del genoma completo** (del inglés, GWAS o Genome-wide association study) es un análisis de la variación genética a lo largo de todo el genoma cuyo objetivo es identificar su asociación a un rasgo o carácter observable. El GWAS utiliza variaciones de la secuencia (principalmente SNP) en todo el genoma, junto con la información fenotípica, para identificar regiones, genes y/o elementos reguladores que pueden ser importantes para los caracteres de interés en el ganado.

Se han llevado a cabo numerosos estudios centrados en la identificación de marcadores genéticos y genes asociados a caracteres seminales en las diferentes especies, como por ejemplo en el ganado vacuno<sup>20,21</sup> o en el porcino<sup>22,23</sup>. Pero hasta la fecha, en el ganado ovino<sup>19</sup> se han desarrollado muy pocos estudios de asociación, relacionados con caracteres de producción seminal.



Actualmente y teniendo en cuenta estas consideraciones, nuestro grupo de investigación está desarrollando un estudio preliminar en la raza ovina Churra española, con el objetivo de identificar mutaciones causales en genes candidatos relacionados con los caracteres volumen seminal (**VOL**), concentración espermática (**SC**) y motilidad masal (**MOT**), y tratar de identificar los procesos biológicos y las funcionalidades en las que estos genes candidatos puedan estar involucrados. Estimamos que podremos tener un manuscrito preparado para su revisión en una revista indexada a mediados del 2021.

## 7. Bibliografía consultada

1. Toro-Mujica P, García A, Gómez-Castro AG, et al. Technical efficiency and viability of organic dairy sheep farming systems in a traditional area for sheep production in Spain. *Small Rumin Res.* 2011;100(2-3):89-95. doi:10.1016/J.SMALLRUMRES.2011.06.008
2. Sanna SR, Casu S, Carta A. Breeding programmes in dairy sheep. *7th World Congr Genet Appl to Livest Prod.* 2002:12-14.
3. Fuente LF De, Gabiña D, Carolino N, Ugarte E. The Awassi and Assaf breeds in Spain and Portugal. 2006;2(September):17-20.
4. Druet T, Fritz S, Sellem E, et al. Estimation of genetic parameters and genome scan for 15 semen characteristics traits of Holstein bulls. *J Anim Breed Genet.* 2009;126(4):269-277. doi:10.1111/j.1439-0388.2008.00788.x
5. David I, Druart X, Lagriffoul G, Manfredi E, Robert-Granié C, Bodin L. Genetic and environmental effects on semen traits in Lacaune and Manech tête rousse AI rams. *Genet Sel Evol.* 2007;39(4):405-419. doi:10.1051/gse:2007011
6. Karoui S, Díaz C, Serrano M, Cue R, Celorrio I, Carabaño MJ. Time trends, environmental factors and genetic basis of semen traits collected in Holstein bulls under commercial conditions. *Anim Reprod Sci.* 2011;124(1-2):28-38. doi:10.1016/j.anireprosci.2011.02.008
7. Berglund B. Genetic Improvement of Dairy Cow Reproductive Performance. *Reprod Domest Anim.* 2008;43(SUPPL.2):89-95. doi:10.1111/j.1439-0531.2008.01147.x
8. Lagriffoul G, Robert-Granié C, Manfredi E, Bodin L, David I. Character process model for semen volume in AI rams: evaluation of correlation structures for long and short-term environmental effects. *Genet Sel Evol.* 2009;39(1):55. doi:10.1186/1297-9686-39-1-55
9. Rege JEO, Toe F, Mukasa-Mugerwa E, et al. Reproductive characteristics of Ethiopian highland sheep II. Genetic parameters of semen characteristics and their relationships with testicular measurements in ram lambs. *Small Rumin Res.* 2000;37(3):173-187. doi:10.1016/S0921-4488(99)00117-0
10. Li X, Jiang B, Wang X, Liu X, Zhang Q, Chen Y. Estimation of genetic parameters and season effects for semen traits in three pig breeds of South China. *J Anim Breed Genet.* 2019;136(3):183-189. doi:10.1111/jbg.12393
11. Pelayo R, Ramón M, Granado-tajada I, et al. Estimation of the genetic parameters for semen traits in Spanish dairy sheep. *Animals.* 2019;9(12):1-11. doi:10.3390/ani9121147
12. Team RC. A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2012. URL <https://www.R-project.org>. 2019.
13. Misztal I, Tsuruta S, Lourenco D, Aguilar I, Legarra A, Vitezica Z. Manual for BLUPF90 family of programs. *Univ Georg Athens, USA.* 2018:125. [https://www.researchgate.net/publication/331812692%0Ahttp://nce.ads.uga.edu/wiki/lib/exe/fetch.php?media=blupf90\\_all2.pdf](https://www.researchgate.net/publication/331812692%0Ahttp://nce.ads.uga.edu/wiki/lib/exe/fetch.php?media=blupf90_all2.pdf).
14. Anel L, Kaabi M, Abroug B, et al. Factors influencing the success of vaginal and laparoscopic artificial insemination in churra ewes: A field assay. *Theriogenology.* 2005;63(4):1235-1247.



doi:10.1016/j.theriogenology.2004.07.001

15. David I, Druart X, Lagriffoul G, Bodin L, Manfredi E, Robert-Granié C. Genetic and environmental effects on semen traits in Lacaune and Manech tête rousse AI rams (Open Access publication). *Genet Sel Evol.* 2009;39(4):405. doi:10.1186/1297-9686-39-4-405
16. Mathevon M, Buhr MM, Dekkers JCM. Environmental, Management, and Genetic Factors Affecting Semen Production in Holstein Bulls. *J Dairy Sci.* 2010;81(12):3321-3330. doi:10.3168/jds.s0022-0302(98)75898-9
17. Paldusová M, Kopec T, Filipčík R, Hosdek M, Máchal L. Effect of selected factors on qualitative and quantitative semen parameters of Czech Fleckvieh bulls. *Acta Univ Agric Silvic Mendelianae Brun.* 2016;64(5):1635-1643. doi:10.11118/actaun201664051635
18. Harper DGC. Some comments on the repeatability of measurements. 2011. doi:10.1080/03078698.1994.9674078
19. Serrano M, Ramón M, Calvo JH, et al. Genome-wide association studies for sperm traits in Assaf sheep breed. *Animal.* December 2020:100065. doi:10.1016/j.animal.2020.100065
20. Yin H, Zhou C, Shi S, et al. Weighted single-step genome-wide association study of semen traits in holstein bulls of china. *Front Genet.* 2019;10(OCT):1-12. doi:10.3389/fgene.2019.01053
21. Qin C, Yin H, Zhang X, et al. Genome-wide association study for semen traits of the bulls in Chinese Holstein. *Anim Genet.* 2017;48(1):80-84. doi:10.1111/age.12433
22. Marques DBD, Bastiaansen JWM, Broekhuijse MLWJ, et al. Weighted single-step GWAS and gene network analysis reveal new candidate genes for semen traits in pigs. *Genet Sel Evol.* 2018;50(1):1-14. doi:10.1186/s12711-018-0412-z
23. Zhao Y, Gao N, Li X, et al. Identifying candidate genes associated with sperm morphology abnormalities using weighted single-step GWAS in a Duroc boar population. *Theriogenology.* 2020;141:9-15. doi:10.1016/j.theriogenology.2019.08.031

## **EQUIPO DE TRABAJO:**

- **JUAN JOSÉ ARRANZ SANTOS**
- **BEATRIZ GUTIÉRREZ GIL**
- **ROCÍO PELAYO SERRANO**
- **AROA SUÁREZ VEGA**
- **HECTOR MARINA GARCÍA**