

Capítulo XX

Genética molecular para el mejoramiento de los rasgos reproductivos en bovinos

Belkys Vásquez
José A. Aranguren-Méndez

La reproducción es un proceso esencial para el mantenimiento de las especies; por tanto, debería mantener un control genético permanente y relativamente estricto que asegure que los pasos del proceso se repitan con certeza y precisión. Sin embargo, es necesario tener en cuenta que existe una variabilidad genética para varios rasgos reproductivos en las diferentes especies.

En bovinos, esta variabilidad genética entre *Bos taurus* y *Bos indicus*, dentro y entre las razas sugiere que es posible el mejoramiento genético para la reproducción. No obstante, el mejoramiento genético para rasgos reproductivos ha sido limitado, quizás por los estimados de heredabilidad (h^2), que en la hembra bovina varían desde bajos (0,01) a moderados (0,57), cuando tomamos como ejemplo, la tasa de no retorno a los 70 días y la edad al primer cuerpo lúteo en novillas. Otras posibles razones para el limitado mejoramiento de los procesos reproductivos serían, la inexistencia de registros reproductivos o la mala calidad de los existentes, el hecho de que algunos procesos son difíciles y costosos de medir, y que se manifiestan en un solo sexo o después de la madurez sexual del animal.

Así mismo, la fertilidad es difícil de estudiar debido a que es un fenotipo complejo, compuesto por varias características que incluyen la habilidad de la vaca para reiniciar su ciclicidad estrual después del parto, exhibir los signos del estro, quedar preñada y mantener una preñez; afectado además por cambios en el ambiente, salud y estatus nutricional. Estas actividades indican que los mecanismos genéticos de la reproducción son más complejos que otros rasgos productivos, como por ejemplo, los de conformación corporal. Se ha evidenciado que los rasgos reproductivos involucran grupos de genes estrechamente ligados, mientras que no lo son, los rasgos de conformación corporal (Cole *et al.*, 2011). Estos puntos mantienen una hipótesis poligénica para los rasgos reproductivos.

Por otra parte, la correlación genética negativa que existe entre la producción de leche y la fertilidad ha causado que esta última haya declinado en las últimas décadas,

en especial, en los grupos de vacas donde se ha aplicado una fuerte selección para producción. Esto demuestra que en la medida en que los programas de selección genética mejoraron la capacidad de producción de las vacas lecheras, ésta no fue acompañada por una mejora de la eficiencia reproductiva, por el contrario la revertió.

Este deterioro en la eficiencia reproductiva conlleva un gran costo económico, a la vez que demuestra que la edad a la pubertad y a la primera concepción, duración del anestro postparto y la vida útil productiva son los principales factores que tienen influencia sobre la productividad de un rebaño. Además que afectan el bajo desempeño reproductivo que es la razón principal de sacrificio involuntario en ganado lechero (Berglund, 2008).

En Venezuela, a excepción de algunas asociaciones de criadores, el registro de los eventos reproductivos, aún es incipiente. En un estudio realizado por Silva et al. (2010), en la región de Machiques de Perijá del estado Zulia, un 25% de las fincas no posee ningún tipo de registro, mientras que el 75% restante combinan registros productivos y reproductivos. De estos, el 71,9% registra las palpaciones, servicios, vacas próximas y los nacimientos, lo que les permite obtener los índices de intervalo entre partos (días), edad al primer parto (meses) y vida útil de las vacas y de los toros (años), entre otros.

La infertilidad es un problema que tiene alcance mundial, particularmente en la ganadería especializada, por lo que ha sido necesario tomar acciones a nivel internacional, lo que derivó en la implementación de evaluaciones genéticas para rasgos de fertilidad en muchos países. No obstante, ya se han mencionado los inconvenientes que presentan los rasgos reproductivos para ser incluidos en los programas de selección tradicionales. Esta situación puede ser mitigada mediante el aprovechamiento de las nuevas tecnologías moleculares disponibles, las cuales pueden mejorar las estrategias de selección, además de tener un impacto enorme en los programas de evaluación genética al incrementar la precisión de los mismos.

En vista de lo señalado y considerando la posibilidad de mejoramiento de los índices reproductivos en los rebaños bovinos mediante estrategias genéticas y de selección, enfocaremos este trabajo en describir el estado del arte concerniente al estudio de las regiones genómicas, genes candidatos y marcadores de ADN involucrados en el control de la actividad reproductiva, y de qué manera podrían incorporarse a los programas de evaluación y selección genética. Igualmente mencionaremos las direcciones hacia donde encaminar los esfuerzos a futuro.

REPRODUCCIÓN BOVINA SOMETIDA AL ANÁLISIS GENÓMICO.

El propósito del análisis genómico en producción animal es encontrar *loci* de rasgos cuantitativos (*QTL*, por sus siglas en inglés), responsables de la variación de los rasgos de importancia económica en la ganadería. La búsqueda se realiza desde el mapeo de *QTLs* mediante microsatélites hasta los estudios de asociación del genoma completo mediante SNPs. Un *QTL* es definido como una región del genoma que alberga uno o más genes que afectan a un rasgo de tipo cuantitativo (Andersson, 2001). Este último es aquel que muestra una distribución continua de los valores fenotípicos, tal como la edad al primer parto, entre otros. De esta manera las tecnologías molecula-

res han hecho posible que la proporción exacta de la variación pueda ser determinada, en lugar de realizar las estimas a partir de los datos fenotípicos.

Para medir esta variación y verificar la asociación entre una región genómica y la expresión de un rasgo particular, se utilizan los marcadores moleculares de ADN los cuales permiten seguir los patrones de herencia de segmentos genómicos desde los padres hacia los hijos y comparar la expresión de esas regiones con el fenotipo manifestado.

Existen dos métodos principales para descubrir *QTLs*. El primero mediante pruebas de asociaciones utilizando genes como candidatos biológicos, y el segundo mediante barridos genómicos basados en mapeos de ligamientos con marcadores de ADN anónimos para la detección de regiones genómicas (Hayes *et al.*, 2007).

Mientras que los análisis de ligamiento se basan en la cosegregación de alelos marcadores con caracteres fenotípicos, los análisis de genes candidatos se basan en un conocimiento *a priori* de que el gen tiene una probabilidad alta de jugar un rol relevante en la reproducción (Distl, 2007). Estas dos estrategias podrían permitir la detección de genes que influyen a los caracteres reproductivos. Sin embargo, el método preferido para la detección a nivel del genoma de la variación de rasgos importantes, fue el mapeo de *QTL*, que a su vez permitió la postulación de genes candidatos posicionales.

Aunque el mapeo de *QTL* en los animales domésticos alcanzó resultados notables en las últimas décadas, la variación genética de los rasgos complejos no fue totalmente dilucidada debido a la baja densidad de los marcadores utilizada en ese momento. Por esto, surgen los estudios de asociación del genoma completo (*GWAS* por sus siglas en inglés). Estos estudios utilizan los polimorfismos nucleotídicos simples (*SNP*) en el genoma completo, conjuntamente con el fenotipo y el pedigrí, a fin de realizar análisis de asociación e identificar genes o elementos regulatorios que son importantes para los rasgos de interés productivo.

En el caso del análisis de genes candidatos, se conoce que estos son identificados por su rol fisiológico en la reproducción y/o por su localización en una región genómica ligada a un carácter fenotípico reproductivo o a su expresión diferencial durante procesos claves en la reproducción. Obviamente los candidatos biológicos para rasgos de fertilidad son aquellos genes que codifican proteínas involucradas en estos procesos, como por ejemplo las hormonas reproductivas, los receptores de cada una de estas hormonas y aquellos genes con evidencia funcional relacionada a la fertilidad.

QTL ASOCIADOS A LA FERTILIDAD EN LA HEMBRA BOVINA

Desde los estudios iniciales, la investigación en *QTL* ha tenido un enorme avance utilizando microsatélites hasta las investigaciones más recientes en las que se utilizan miles de *SNPs* en estudios *GWAS*. Sin embargo, solo ofreceremos un resumen de aquellos que pueden tener mayor impacto sobre el componente reproductivo de la hembra bovina o que han sido detectados en varias razas, en más de un estudio.

En el Cuadro 1 se muestran los principales *QTL* asociados a rasgos reproductivos en la hembra bovina. Como puede observarse, ya en el año 1996 se habían identificado los primeros *QTL* con un valor genético estimado para tasa de ovulación en ganado de carne *Bos taurus*, mediante el uso de marcadores microsatélites (Blattman *et al.*, 1996).

Los *QTL* se han detectado prácticamente en todos los cromosomas, confirmando la complejidad de los rasgos reproductivos en la hembra bovina. Por esta razón, se destacan las regiones genómicas que fueron asociadas con rasgos reproductivos en más de un estudio; ya que la confirmación de un *QTL* en poblaciones independientes, incrementa la confianza de los resultados reportados. En este sentido, se enfatizan los cromosomas uno, cinco (en múltiples regiones), catorce (en múltiples regiones) y dieciséis.

Cuadro 1
Regiones cromosómicas y QTL asociados a rasgos reproductivos en la hembra bovina

Rasgo fenotípico	Referencia	Cromosoma
Tasa de ovulación	Blattman <i>et al.</i> (1996)	5,7
Índice de fertilidad	Sahana <i>et al.</i> (2010)	4, 9, 10, 24
Tasa de preñez de las hijas	Cole <i>et al.</i> (2011)	1, 7, X
Intervalo parto-primer servicio	Höglund <i>et al.</i> (2009)	1, 11, 13
Nº servicios	Sahana <i>et al.</i> (2010)	4, 5, 9, 10
Nº servicios/concepción	Höglund <i>et al.</i> (2009)	7, 24

Adaptado de Fortes *et al.* (2013).

GENES CANDIDATOS ASOCIADOS A LA FERTILIDAD EN LA HEMBRA BOVINA

Se han postulado varios genes candidatos, bien sea como candidato posicional, tal es el caso del gen IGF1 (factor de crecimiento insulínico 1) o como candidato biológico, en el caso de LHR (receptor de hormona Luteinizante), GnRHR (receptor de hormona liberadora de gonadotropinas) (Milazzotto *et al.*, 2008) y FGF2 (factor de desarrollo de fibroblasto 2), incorporándose éste último por su rol en el reconocimiento materno de la preñez en rumiantes.

Al mismo tiempo, se han descrito polimorfismos en varios de estos genes candidatos, los cuales han sido asociados con un inicio temprano de la actividad luteal, mortalidad embrionaria, mayor número de vacas con estros cíclicos, respuestas diferenciales a tratamientos superovulatorios y la tasa de sobrevivencia embrionaria.

Venezuela se ha caracterizado como parte del gen receptor de hormona Luteinizante (LHR) en ganado Criollo Limonero y Carora, habiéndose determinado varios polimorfismos en el mismo, los cuales podrían ser estudiados en un futuro para verificar su asociación con rasgos reproductivos.

Lo anterior representa solo una pequeña porción de los genes que están envueltos en los procesos reproductivos. Estudios más recientes han revelado genes cuya expresión en los tejidos de importancia para la reproducción, varía con el estatus reproductivo. Por ejemplo, se han evidenciado genes que fueron regulados diferencialmente en el cerebro de vacas que mostraron un comportamiento estrual intenso comparado con vacas que mostraron estros débiles (Kommadath *et al.*, 2011). También se

han señalado genes que se expresaron diferencialmente en el endometrio de novillas que produjeron embriones viables, comparados con la expresión génica en endometrios que produjeron embriones no viables (Beltman *et al.*, 2010).

FERTILIDAD EN EL MACHO BOVINO

Desde el primer reporte de *QTL* para rasgos reproductivos en el macho bovino realizado con microsatélites (Casas *et al.*, 2004), hasta los últimos avances realizados con *GWAS* (Fortes *et al.*, 2012a), es sorprendente el bajo número de estudios realizados en el macho, considerando su contribución en el éxito reproductivo de una finca ganadera. En el Cuadro 2, se muestran los datos disponibles acerca de los principales *QTL* asociados a rasgos reproductivos en el macho bovino. Se destacan las regiones genómicas ubicadas en los cromosomas cinco, veintinueve y X, las cuales fueron asociadas con rasgos de fertilidad del macho, en diferentes estudios. En el caso del cromosoma X, las asociaciones detectadas con rasgos de fertilidad en el toro, coinciden entre ganado lechero (Blaschek *et al.*, 2011) y ganado de carne (Fortes *et al.*, 2012a).

GENES CANDIDATOS ASOCIADOS A LA FERTILIDAD EN EL MACHO BOVINO

Quizás el primer estudio realizado en el toro, donde se evaluó la asociación de rasgos de fertilidad con polimorfismos en un gen candidato, fue publicado en el año 1999; en este estudio se analizó el gen que codifica a la hormona de crecimiento (GH) debido a su significancia biológica sobre rasgos cuantitativos de interés productivo.

En el macho bovino son menos numerosos los estudios relacionados a genes candidatos biológicos y posicionales para rasgos reproductivos. Sin embargo, a partir de los recientes estudios *GWAS*, han surgido numerosos genes candidatos posicionales para rasgos de fertilidad. Tal es el caso del gen *ITGB5* (integrina beta 5), el cual tiene un rol importante en la interacción espermatozoide- óvulo, y por lo cual es un potencial candidato posicional y biológico en la fertilidad del macho bovino.

Así mismo, se han evaluado como candidatos biológicos para edad a pubertad y calidad espermática en el toro, genes del eje endocrino- reproductivo como *FSH*, *GnRHR* y *SPAG11* (antígeno asociado al espermatozoide), observándose una asociación positiva de este último con calidad del espermatozoide fresco y congelado.

Recientemente, se han detectado regiones genómicas asociadas con tasa de concepción del toro (Peñagaricano *et al.*, 2012). Estas regiones, alojaron varios genes candidatos posicionales promisorios como los genes *DYNCH2* (Dysneina) y *LOC784935* (*CBP/p300*), asociados con funciones claves en la espermatogénesis y fertilidad en otras especies. Igualmente *ZNF541* (zinc finger) y *CACNA1H* (calcium channel), implicados en la remodelación de la cromatina durante la espermatogénesis y con el flujo de calcio durante la reacción del acrosoma; éste último constituye un proceso crucial durante la interacción gamética y la fertilización.

Así mismo, se descubrieron genes candidatos posicionales para circunferencia escrotal, porcentaje de espermatozoides normales así como niveles sanguíneos prepuberales de inhibina, hormona Luteinizante e *IGFI* (Fortes *et al.*, 2012a). De este estu-

dio, los candidatos más significantes o con el vínculo biológico más obvio, fueron *INHA* (alfa inhibina) y *STK11IP* (proteína interactuante serina/Treonina kinasa 11). Este último con un rol probable en la espermatogénesis y fertilidad humana.

En este mismo trabajo se postuló al receptor de andrógenos (*AR*) como el candidato posicional más obvio para circunferencia escrotal en una región del cromosoma X; posteriormente, sus polimorfismos se encontraron asociados con circunferencia escrotal y porcentaje de espermatozoides normales.

En los últimos dos años se destaca el descubrimiento de alelos microsatélites ubicados en el cromosoma Y, asociados a calidad seminal en el toro, así como el hallazgo en el año 2014, del gen *TMEM95* (proteína 95 transmembrana, asociado al éxito reproductivo de toros que se utilizan en inseminación artificial).

APLICACIÓN DE LOS MARCADORES GENÉTICOS EN LA REPRODUCCIÓN DEL GANADO BOVINO

El propósito final de los estudios de *QTL* y de *GWAS* es la identificación de las mutaciones causales que promueven el cambio fenotípico; sin embargo, es todo un desafío encontrar y probar la causalidad de un polimorfismo asociado. Esto es evidente al observar el bajo número de mutaciones comprobadas en la especie ovina y porcina, específicamente para tasa de ovulación alta e hiperprolificidad en ovejas, y edad a pubertad y tamaño de la camada en cerdas.

Cuadro 2

Regiones cromosómicas y *QTL* asociados a rasgos reproductivos en el macho bovino

Rasgo fenotípico	Referencia	Cromosoma
Circunferencia escrotal (12 meses)	Fortes <i>et al.</i> (2012a).	14, X
Peso y volumen testicular	Casas <i>et al.</i> (2004).	29
Tasa de concepción del macho	Peñagaricano <i>et al.</i> (2012).	2, 5, 18, 25, 29
Inhibina sérica, niveles de hormona LH (4 m), % espermatozoides normales (24 m))	Fortes <i>et al.</i> (2012a).	2, 28, X
Concentración de FSH sérica	Casas <i>et al.</i> (2004).	5
Edad a la pubertad	Fortes <i>et al.</i> (2012b).	<u>14, X</u>

Adaptado de Fortes *et al.* (2013).

Actualmente existen herramientas comerciales basadas en marcadores genéticos, las cuales están siendo utilizadas para la selección de ganado de carne y leche (Fortes *et al.*, 2013). Éstas pueden ser utilizadas de dos maneras: selección asistida por marcadores y selección genómica (MAS y GS por sus siglas en inglés). La estrategia de MAS se basa en pocos polimorfismos significativamente asociados mediante estudios de *QTL* y *GWAS*; la GS utiliza simultáneamente miles de marcadores dispersos en todo el genoma. A pesar de esta distinción, Boichard (2006) refiere como MAS a cualquier procedimiento de selección que incorpora la información molecular de *QTL* y genes conocidos.

A excepción de la ganadería francesa, la adopción de *MAS* ha sido limitada hasta fechas recientes. Esto se explica por las ganancias pequeñas que se lograron al inicio, debido al bajo número de marcadores que se encontraban disponibles; debe recordarse que muchos rasgos cuantitativos son controlados por un gran número de *loci*, y un *locus* simple, apenas capturaba una proporción limitada de la varianza genética total (Hayes *et al.*, 2009), añadiendo además el alto costo del genotipado. A esto se le agrega la complejidad de calcular los valores mejorantes, incluyendo la información del marcador. Estas limitaciones pueden superarse mediante la *GS*, y actualmente, su aplicación es factible en algunos países debido al desarrollo de métodos de genotipado de alto rendimiento.

Los programas de *GS* estiman una ecuación de predicción en una población de referencia de la que se dispone de data genotípica y fenotípica. Esta ecuación de predicción puede utilizarse para predecir los valores mejorantes en animales sin información fenotípica.

CONCLUSIÓN

En los próximos años, la demanda de productos de origen animal incrementará en la medida que la población humana aumente; esto ocurrirá en un escenario de gran competencia por la tierra, agua, fertilizantes, granos, etc., lo cual acrecentará los costos de la producción ganadera, exacerbados quizás por el cambio climático.

En este contexto, los sistemas de producción ganadera deben incrementar su eficiencia, y una vía puede ser mediante la ganancia genética. Para esto debemos cumplir dos objetivos claves, incrementar la eficiencia reproductiva y disminuir el porcentaje de desórdenes reproductivos en las siguientes generaciones.

Una tasa alta de ganancia genética requiere aumentar la intensidad de selección, disminuir los intervalos generacionales y realizar predicciones precisas de los valores mejorantes. Una precisión aceptable en la estimación de este valor mejorante en el caso de un rasgo con baja heredabilidad, requiere de grupos de progenie grandes con una gran cantidad de registros. Por esta razón, el registro de los sucesos reproductivos a nivel de fincas es muy importante.

DESAFÍOS EN LOS ESTUDIOS DE LOS MARCADORES GENÉTICOS

No se cuenta con datos que permita estimar el porcentaje de productores que posee registros productivos y reproductivos en el resto del país, pero se asume que es menor al observado en el estado Zulia, de acuerdo a un estudio realizado en el sur del estado Aragua, donde se concluye que los productores de la zona no mantienen registros productivos de ningún tipo.

Esta situación debe revertirse y encaminar los esfuerzos para promover la recolección de registros reproductivos a nivel de fincas, la unificación de criterios para el registro de los sucesos reproductivos a nivel nacional y la creación de sistemas de registros nacionales; ya que estas serán las únicas maneras de contar con datos fenotípicos que puedan ser asociados a regiones genómicas. Así mismo, se deben caracterizar

los rebaños nacionales mediante tecnologías moleculares; en Venezuela existen razas criollas y locales que pueden albergar polimorfismos singulares o únicos para caracteres reproductivos, seleccionados naturalmente debido a su necesidad de subsistir y producir en condiciones desfavorables. Por último pero no menos importante, debemos incrementar el acceso a las herramientas moleculares, así como la disponibilidad de las mismas en las universidades y centros de investigación.

Por todo lo descrito, además de su alto costo, alta demanda organizacional y el número limitado de genes o regiones genómicas importantes caracterizadas, MAS y GS permanecerán muy limitadas para Venezuela por algunos años.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andersson L. 2001. Genetic dissection of phenotypic diversity in farm animals. *Nature reviews. Genetics* 2 (2): 130-138.
- Beltman ME, Forde N, Furney P, Carter F, Roche JF, Lonergan P, Crowe MA. 2010. Characterisation of endometrial gene expression and metabolic parameters in beef heifers yielding viable or non-viable embryos on Day 7 after insemination. *Reprod Fert Dev* 22 (6): 987-999.
- Berglund B. 2008. Genetic improvement of dairy cow reproductive performance. *Reprod Domest Anim. Zuchthygiene* 43 (Suppl 2): 89-95.
- Blaschek M, Kaya A, Zwald N, Memili E, Kirkpatrick BW. 2011. A whole-genome association analysis of noncompensatory fertility in Holstein bulls. *J Dairy Sci* 94 (9): 4695-4699.
- Blattman AN, Kirkpatrick BW, Gregory KE. 1996. A search for quantitative trait loci for ovulation rate in cattle. *Anim Genet* 27 (3): 157-162.
- Boichard D, Fritz S, Rossignol M, Guillaume F, Colleau J, Druet T. 2006. Proceedings of the 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production Belo Horizonte-MG, Brazil, MinasCentro Convencion Centre, August 13-18, 2006. Belo Horizonte: Instituto Prociência.
- Casas E, Lunstra DD, Stone RT. 2004. Quantitative trait loci for male reproductive traits in beef cattle. *Anim Genet* 35 (6): 451-453.
- Cole JB, Wiggans GR, Ma L, Sonstegard TS, Lawlor TJ, Jr, Crooker BA, Da Y. 2011. Genome-wide association analysis of thirty one production, health, reproduction and body conformation traits in contemporary U.S. Holstein cows. *BMC Genomics* 12: 408.
- Distl O. 2007. Mechanisms of regulation of litter size in pigs on the genome level. *Reproduction in domestic animals. Zuchthygiene* 42 (Suppl 2): 10-16.
- Fortes M, Reverter A, Hawken R, Bolormaa S, Lehnert S. 2012a. Candidate Genes Associated with Testicular Development, Sperm Quality, and Hormone Levels of Inhibin, Luteinizing Hormone, and Insulin-Like Growth Factor 1 in Brahman Bulls. *Biol Reprod* 87 (3): 58-58.
- Fortes MRS, Lehnert SA, Bolormaa S, Reich C, Fordyce G, Corbet NJ, Reverter A. 2012b. Finding genes for economically important traits: Brahman cattle puberty. *Anim Prod Sci* 52 (3): 143
- Fortes MRS, Deatley KL, Lehnert SA, Burns BM, Reverter A, Hawken RJ, Thomas MG. 2013. Genomic regions associated with fertility traits in male and female cattle: advances from microsatellites to high-density chips and beyond. *Anim Reprod Sci* 141 (1-2): 1-19.

- Hayes BJ, Chamberlain AJ, McPartlan H, Macleod I, Sethuraman L, Goddard ME. 2007. Accuracy of marker-assisted selection with single markers and marker haplotypes in cattle. *Genet Res* 89 (4): 215-220.
- Hayes BJ, Bowman PJ, Chamberlain AJ, Goddard ME. 2009. Invited review: Genomic selection in dairy cattle: Progress and challenges. *J Dairy Sci* 92 (2): 433-443.
- Höglund JK, Guldbbrandtsen B, Su G, Thomsen B, Lund MS. 2009. Genome scan detects quantitative trait loci affecting female fertility traits in Danish and Swedish Holstein cattle. *J Dairy Sci* 92 (5): 2136-2143.
- Kommadath A, Woelders H, Beerda B, Mulder HA, de Wit AA, Veerkamp RF, Smits MA. 2011. Gene expression patterns in four brain areas associate with quantitative measure of estrous behavior in dairy cows. *BMC Genomics* 12 (1): 200.
- Milazzotto MP, Rahal P, Nichi M, Miranda-Neto T, Teixeira L A, Ferraz JBS, Garcia J F. 2008. New molecular variants of hypothalamus–pituitary–gonad axis genes and their association with early puberty phenotype in *Bos taurus indicus* (Nelore). *Livest Sci* 114 (2): 274-279.
- Peñagaricano F, Weigel KA, Khatib H. (2012). Genome-wide association study identifies candidate markers for bull fertility in Holstein dairy cattle. *Anim Genet* 43 (Suppl 1): 65-71.
- Sahana G, Guldbbrandtsen B, Bendixen C, Lund MS. (2010). Genome-wide association mapping for female fertility traits in Danish and Swedish Holstein cattle. *Anim Genet* 41 (6) 579-588.
- Silva D, Peña ME, Urdaneta F. 2010. Registros de control e indicadores de resultados en ganadería bovina de doble propósito. *Revista Científica, FCV-LUZ*. Maracaibo 20: 88-100.