

## Role of fecundity genes in ovulation rate and litter size in sheep

### Función de genes de la fecundidad en tasa ovulatoria y tamaño de la camada en ovejas

Muñoz-García, C.<sup>1</sup>; Torres-Hernández, G.<sup>1</sup>; Gallegos-Sánchez, J.<sup>1</sup>; Cuca-García, J.M.<sup>1</sup>; Salazar-Ortiz, J.<sup>2</sup>; Cortez-Romero, C.<sup>1,3,\*</sup>

<sup>1</sup>Colegio de Postgraduados, Recursos Genéticos y Productividad-Ganadería, Campus Montecillo, Carretera México-Texcoco km. 36.5, Montecillo, Texcoco, 56230, Estado de México, México.

<sup>2</sup>Colegio de Postgraduados, Innovación Agroalimentaria Sustentable, Campus Córdoba, carretera federal Córdoba-Veracruz km 348, Congregación Manuel León, 94946, Amatlán de los Reyes, Veracruz, México. <sup>3</sup>Colegio de Postgraduados, Innovación en Manejo de Recursos Naturales, Campus San Luis Potosí, Iturbide No. 73, Salinas de Hidalgo, 78600, San Luis Potosí, México.

\*Correspondencia: ccortez@colpos.mx

#### ABSTRACT

**Objective:** to describe the role of the *GDF9*, *BMP15* and *BMPR-1B* genes on ovulation rate and prolificacy in sheep.

**Design/methodology/approach:** A search and analysis of scientific information related to fecundity genes in sheep was carried out from the Web of Science and Scopus databases.

**Results:** in the fecundity genes, it is included the Growth and Differentiation Factor 9 (*GDF9*), Bone Morphogenic Protein 15 (*BMP15*) and Bone Morphogenic Protein Receptor type 1B (*BMPR1B*), which belong to the Transforming Growth Factor type  $\beta$  (*TGF $\beta$* ). In most of the mutations found in the coding regions of these genes, heterozygous sheep show an increase in ovulation rate and prolificacy; on the contrary, homozygous sheep are infertile. However, some breeds of sheep with a double mutation or homozygous copies have high ovulation and prolificacy rates.

**Implications:** these genetic variants found in the fecundity genes related to the ovulation rate and prolificacy in the sheep, represent a great utility in the implementation of genetic improvement programs, aimed to improve the reproductive efficiency and profitability of the flocks.

**Conclusions:** these fecundity genes participate in the proliferation, growth and differentiation of theca and granulosa cells, favor steroidogenesis in granulosa cells and are fundamental in folliculogenesis at the ovarian level. Heterozygous genotypes have an increase in ovulatory rate and prolificacy, but homozygous sheep are infertile. However, in some breeds, homozygous or double mutation genotypes are fertile and have high ovulation and prolificacy rates.

**Keywords:** genes, *GDF9*, *BMP15*, *BMPR1B*, fecundity.

#### RESUMEN

**Objetivo:** describir la función de los genes *GDF9*, *BMP15* y *BMPR-1B* en tasa ovulatoria y prolificidad en ovejas.

**Diseño/metodología/aproximación:** Se realizó una búsqueda y un análisis de la información científica relacionada con genes de la fecundidad en ovejas, a partir de las bases de datos de la Web of Science y Scopus.

**Agroproductividad:** Vol. 13, Núm. 6, junio. 2020, pp: 85-91.

**Recibido:** septiembre, 2019. **Aceptado:** mayo, 2020.

**Resultados:** en los genes de la fecundidad, se tiene el Factor de Crecimiento y Diferenciación 9 (*GDF9*), la Proteína Morfogénica Ósea 15 (*BMP15*) y el receptor de la Proteína Morfogénica Ósea tipo 1B (*BMPR1B*), que pertenecen a la familia del Factor de Crecimiento Transformante tipo  $\beta$  (*TGF $\beta$* ). En la mayoría de las mutaciones encontradas en las regiones codificantes de estos genes, las ovejas heterocigotas aumentan tasa ovulatoria y prolificidad; mientras que, las homocigotas son infértiles. No obstante, algunas razas de ovinos homocigotas tienen tasas ovulatorias y prolificidad altas.

**Implicaciones:** las mutaciones en los genes de fecundidad relacionadas con tasa ovulatoria y prolificidad, representan una gran utilidad en la implementación de programas de mejoramiento genético, para mejorar la eficiencia reproductiva y rentabilidad de los rebaños.

**Conclusiones:** estos genes de la fecundidad participan en la proliferación, crecimiento y diferenciación de las células de la teca y granulosa, favorecen la esteroidogénesis en las células de la granulosa y son fundamentales en la foliculogénesis a nivel ovario. Los genotipos heterocigotas aumentan tasa ovulatoria y prolificidad, pero las ovejas homocigotas son infértiles; sin embargo, en algunas razas, el genotipo homocigoto es fértil y con tasas ovulatoria y de prolificidad altas.

**Palabras clave:** genes, *GDF9*, *BMP15*, *BMPR1B*, fecundidad.

## INTRODUCCIÓN

La reproducción en los ovinos desempeña una función importante en la eficiencia y rentabilidad del rebaño, la cual podría medirse a través de la tasa ovulatoria y prolificidad en la oveja; sin embargo, esta especie presenta gran variabilidad genética en dichas variables, la cual está asociada a genes de efecto mayor que intervienen en la función ovárica (Hanrahan *et al.*, 2004). Dentro de estos genes se encuentran el Factor de Crecimiento y Diferenciación 9 (*GDF9*), la Proteína Morfogénica Ósea 15 (*BMP15*) y el receptor de Proteína Morfogénica Ósea tipo 1B (*BMPR-1B*), que pertenecen a la familia del *TGF $\beta$* , son altamente expresados en el ovocito y se han identificado en diferentes razas de ovinos (Hanrahan *et al.*, 2004; De Castro *et al.*, 2016). El conocimiento referente a la identificación e influencia de polimorfismos reportados en estos genes, permitirá comprender el control genético de los genotipos en variables reproductivas en la oveja. Por lo tanto, el objetivo de este análisis fue describir la función que desempeñan los genes *GDF9*, *BMP15* y *BMPR-1B* en la tasa ovulatoria y prolificidad de ovejas.

### Participación de genes de la fecundidad en variables reproductivas:

#### Gen *GDF9*

El gen *GDF9* ó *FecG* se encuentra en el cromosoma cinco de los ovinos (Sadighi *et al.*, 2002). Este gen tiene una longitud de 1365 pares de bases (pb) y está formado por dos exones y separados por un intrón, codifica un propeptido de 456 aminoácidos y el péptido maduro activo es de 135 aminoácidos (Bodensteiner *et al.*, 1999). Es altamente expresado en los ovocitos, y la proteína que codifica este gen, es miembro de la familia de las proteínas morfogénicas que pertenecen a la familia del *TGF $\beta$*  (Hanrahan *et al.*, 2004).

Sus principales funciones son intervenir en la proliferación y organización de las células de la teca que rodean al folículo (Strauss y Williams, 2019), participar activamente en el crecimiento y desarrollo folicular en todas las etapas de la foliculogénesis y promover la proliferación y diferenciación de las células de la granulosa (Juengel *et al.*, 2013), las cuales requieren de la señalización parácrina del gen *GDF9* para que las enzimas hialuronano sintasa 2 y el activador del plasminógeno tipo uroquinasa se expresen en el complejo ovocito-cumulus, y se lleve a cabo la expansión del cumulus. Este proceso ocurre en los folículos preovulatorios antes de que se lleve a cabo la ovulación (Myers y Pangas, 2010). Cuando *GDF9* se une a su receptor de membrana tipo 2, o *BM-PRII* (receptor de la proteína morfogénica ósea tipo II) en la célula de la granulosa (Figura 1), se promueve la fosforilación del receptor tipo I o *ALK5* (receptor activina quinasa tipo 5); estos receptores reconocen y fosforilan las proteínas SMAD, y con ello se activan las vías de señalización SMAD 2 y 3, las cuales se unen a SMAD4 y se trasladan desde el citoplasma al núcleo para interactuar con los reguladores transcripcionales, mediante lo cual se lleva a cabo la transcripción de genes de respuesta, las funciones biológicas de diferenciación, estimulación del crecimiento del folículo preantral, y formación cuboidal en células de la granulosa que rodean al ovocito (Sanfins *et al.*, 2018). Además, la interacción del kit ligando (KL) con su receptor c-kit en el ovocito (Figura 1), permite que *GDF9* potencialice el efecto del Factor de Crecimiento de Fibroblastos ocho (*FGF8*) en la producción de estradiol, sin afectar la producción de progesterona (P4), inducido por la hormona

estimulante del folículo (FSH) en las células de la granulosa (Miyoshi et al., 2012).

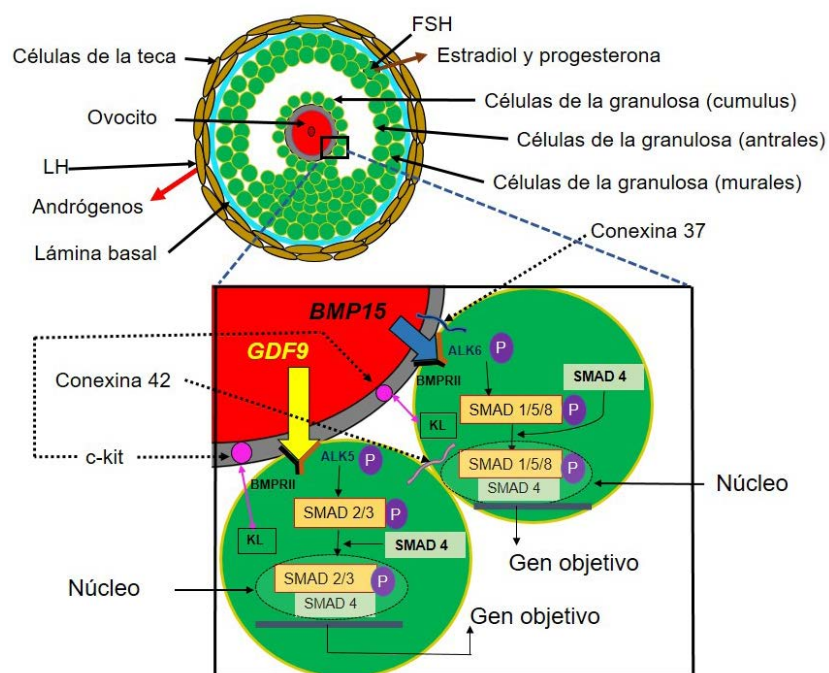
*GDF9* promueve la expresión del receptor GPCR (receptor acoplado a proteínas G, por sus siglas en inglés, clase A) de la FSH durante el desarrollo folicular (Orisaka et al., 2006), ya que después de la etapa antral temprana, se requiere gran cantidad de receptores a FSH en las células de la granulosa para sostener el crecimiento constante del folículo antral que es dependiente de FSH (Orisaka et al., 2006; Otsuka et al., 2011). En las razas Cambridge y Belclare, las ovejas heterocigotas incrementan su tasa ovulatoria, mientras que las ovejas homocigotas son infértiles, debido a la hipoplasia ovárica y fallas primarias en la foliculogénesis (Hanrahan et al., 2004). El fenotipo de infertilidad en estas dos razas, está directamente relacionado al cambio del aminoácido serina (polar sin carga) por fenilalanina (no polar), este cambio de polaridad afecta la unión de *GDF9* a los receptores BMP tipo I o *ALK5* (Hanrahan et al., 2004; Otsuka et al., 2011). En ovejas heterocigotas de la raza Thoka, la sustitución de serina (polar sin carga) por arginina (polar), aumentó la tasa ovulatoria, mientras que las homocigotas presentaron infertilidad, debido a un útero rudimentario, ovarios pequeños e inactivos y sin desarrollo folicular (Nicol et al., 2009). En contraste, en las razas Santa Inés, Blanca Noruega y Finnsheep, las

ovejas homocigotas presentaron alta tasa ovulatoria y prolificidad (Silva et al., 2010; Våge et al., 2013; Mullen y Hanrahan, 2014). A la fecha, se han reportado once mutaciones en la región codificante del gen *GDF9*, pero solo cinco afectan la tasa ovulatoria y el tamaño de la camada (Cuadro 1).

### Gen *BMP15*

El gen *BMP15* o *GDF-9B*, también llamado *FecX*, se localiza en el cromosoma X de los ovinos (Galloway et al., 2000), tiene una longitud de 1179 pb y está formado por dos exones, los cuales están separados por un intrón; codifica un pre-propéptido de 393 aminoácidos y el péptido maduro activo es de 125 aminoácidos. Se expresa en los folículos hasta la etapa tipo 2 de desarrollo, células del cúmulus, y en ovocitos estructuralmente relacionado al gen *GDF9*, debido a su patrón similar de expresión (Galloway et al., 2000; Strauss y Williams, 2019). La proteína que codifica el gen *BMP15* es miembro de la familia de las proteínas morfogénicas óseas que pertenecen al *TGFβ* (Hanrahan et al., 2004). *BMP15* estimula el crecimiento y diferenciación de las células de la granulosa, las cuales mediante uniones homotípicas de la Conexina-37, favorecen el intercambio de nutrientes y señales con el ovocito (Strauss y Williams, 2019).

Cuando *BMP15* se une a su receptor de membrana tipo 2 o *BMPRII* (Figura 1), se activa al receptor tipo I o *ALK6* (receptor activina quinasa tipo 6) para que reconozca y fosforile a las proteínas SMAD, y así, se activen las vías de señalización SMAD 1/5/8 (McNatty et al., 2005; Moore y Shimasaki, 2005). Estas vías de señalización se unen a SMAD4 para que puedan ingresar al núcleo, y una vez dentro, se unen a cofactores específicos para que inicien la transcripción de los genes requeridos por la célula y estimulen la proliferación de las células de la granulosa, crecimiento y desarrollo del folículo preantral y se lleve a cabo la glucólisis en las células del *cumulus*, la esteroidogénesis y la diferenciación celular (Myers y Pangas, 2010; Sanfins et al., 2018).



**Figura 1.** Representación esquemática de señalización parácrina entre el ovocito y las células de la granulosa. Imagen modificada de Gilchrist et al. (2008) y Myers y Pangas (2010).

*BMP15* induce la expresión del KL en células de la granulosa para que se lleve a cabo la esteroidogénesis; pero por otro lado, el KL inhibe la expresión del gen *BMP15* en el ovocito (McNatty et al., 2005; Miyoshi et al.,

2012). Así mismo, en presencia del ovocito, tanto el KL como *BMP15*, estimulan la mitosis de las células de la granulosa (Strauss y Williams, 2019) y reducen la producción de progesterona al suprimir la expresión de la enzima reguladora StAR (proteína reguladora aguda de la esteroidogénesis) (De Castro *et al.*, 2016). Los homodímeros *GDF9:GDF9* y *BMP15:BMP15* poseen actividad biológica; sin embargo, los heterodímeros, *GDF9:BMP15* de las proteínas de estos genes, recientemente denominados cumulina, son más bioactivos y actúan como potentes reguladores de las funciones de las células de la granulosa y *cumulus* para mejorar la calidad del ovocito (Sanfins *et al.*, 2018; Strauss y Williams, 2019). En la actualidad en distintas razas de ovinos a nivel mundial se han reportado nueve mutaciones en la región codificante del gen *BMP15* (Cuadro 1). Las ovejas con genotipo heterocigoto incrementan su tasa ovulatoria y prolificidad, mientras que las homocigotas son infértiles, debido a una hipoplasia ovárica, función anormal de las células del *cumulus* y fallas primarias en la foliculogénesis (Hanrahan *et al.*, 2004). No obstante, las ovejas homocigotas de las razas Grivette y Olkuzka, son fértiles y tienen alta tasa ovulatoria y gran tamaño de la camada (Demars *et al.*, 2013).

### Receptor del gen *BMPR-1B*

El receptor del gen *BMPR-1B*, gen Booroola (*FecB*) o receptor activina quinasa tipo 6 (ALK6) se localiza en el cromosoma 6 de los ovinos (Mulsant *et al.*, 2001; Souza *et al.*, 2001; Wilson *et al.*, 2001), y es responsable de la alta fecundidad en ovejas Merino Booroola, con un efecto aditivo en tasa ovulatoria y parcialmente dominante en tamaño de la camada (Davis, 2005). Se expresa en el cere-

bro, cerebelo, hipotálamo, hipófisis, riñones, útero y oviducto (Wilson *et al.*, 2001; Tang *et al.*, 2018); sin embargo, su mayor expresión es en las células germinales primordiales del ovario. Este hallazgo sugiere que la forma mutante de *BMPR-1B* interviene en el proceso de formación (Reader *et al.*, 2012), desarrollo y madurez folicular (Tang *et al.*, 2018). La mutación responsable del fenotipo Booroola en las ovejas Merino fue la sustitución de adenina por guanina en la posición 746 y, en la posición 249 de la proteína, la glutamina cambió por arginina (Mulsant *et al.*, 2001; Souza *et al.*, 2001; Wilson *et al.*, 2001); es altamente conservada y favorece la esteroidogénesis en las células de la granulosa (Mulsant *et al.*, 2001). Se ha reportado que la madurez precoz de los folículos, aunado al rápido inicio para responder a la acción de la hormona luteinizante (LH) a través de su receptor GPCR, permite que más folículos preovulatorios,  $\geq 1$  mm de diámetro, supervivan al efecto inhibitorio de LH cuando se realiza la selección del folículo ovulatorio, lo cual va a permitir contar con más folículos para ovular (Juengel *et al.*, 2013; Guo *et al.*, 2018).

Un estudio proteómico realizado en ovejas Han de cola pequeña con la mutación *FecB* homocigota, reportó que la alta prolificidad provocada por dicha mutación en parte es debida al mayor nivel de expresión de las enzimas nicotinamida adenina dinucleótido deshidrogenasa, enzima adenosíntrifosfato tipo F, fumarato reductasa y componentes del Citocromo C oxidasa, las cuales fomentan mayor actividad oxidativa en las mitocondrias del ovario. Dada la alta actividad oxidativa de carbohidratos y lípidos, en la obtención de energía para el ovocito, se

producen grandes cantidades de especies reactivas de oxígeno; sin embargo, en el fluido folicular de las ovejas con la mutación *FecB*, se detectaron grandes cantidades de antioxidantes como la cisteína (disulfuro glutatión-cisteína y aminoácido  $\gamma$ -glutamilo), así como, altos niveles de los aminoácidos treonina, aspartato, asparagina, lisina, cisteína y arginina, los cuales ayudan a contrarrestar los efectos nocivos de los radicales libres y brindar mejor microambiente nutricional, donde se especula que los antioxidantes detectados en el fluido folicular de ovejas homocigotas a *FecB*, puede tener efectos benéficos en el crecimiento, madurez y calidad de los ovocitos (Miao *et al.*, 2016; Guo *et al.*, 2018).

### CONCLUSIONES

El gen *GDF9* promueve la proliferación, organización y diferenciación de las células de la teca y granulosa, es fundamental en la foliculogénesis, potencializa el efecto del *FGF8* en la producción de estradiol, inhibe la apoptosis de las células de la granulosa y disminuye la atresia folicular; además, promueve la expresión del receptor a la FSH en las células de la granulosa. El gen *BMP15* estimula la mitosis, proliferación, crecimiento y diferenciación de las células de la granulosa promueve el crecimiento y desarrollo del folículo preantral, induce la expresión del KL en células de la granulosa, y reduce la producción de P4. El gen *BMPR-1B* favorece la esteroidogénesis en las células de la granulosa, interviene en la formación, desarrollo y madurez precoz de los folículos. En la mayoría de los genes *GDF9* y *BMP15*, las ovejas heterocigotas aumentan su tasa ovulatoria y prolificidad, en tanto que las homocigotas son infértiles.

**Cuadro 1.** Polimorfismos en genes de la fecundidad *BMPR-1B*, *BMP15* y *GDF9* en razas de ovinos prolíficas a nivel mundial.

Gen	Alelo o SNP	Raza	Cambio en nucleótido	Cambio en aminoácido	Tasa ovulatoria	Prolificidad	País	Referencia	
<i>BMPR-1B</i>	<i>FecB<sup>B</sup></i>	Merino Javanese Han de cola pequeña	p.746 A→G	Gln249Arg	BB: 4.6-7.1 BB: 5.2-7.1 BB: 3.7 BB: 2.7-3.0	BB: 2.0-2.2 BB: 2.0-3.0 BB: 2.1-2.9 BB: 2.6-2.8	Australia Reino Unido Nueva Zelanda Indonesia, China	Mulsant et al. (2001), Souza et al. (2001), Wilson et al. (2001), Davis et al. (2006), Chu et al. (2007), Chu et al. (2011)	
	-----	Mehraban	p.112 C→A p.113 C→G	Thr37Lys	-	M+: 1.3	Irán	Abdoli et al. (2013)	
	<i>FecX<sup>I</sup></i>	Inverdale (Romney)	p.896 T→A	Val299Asp	I+: 2.5-3.2	I+: +0.6	Nueva Zelanda	Galloway et al. (2000)	
	<i>FecX<sup>H</sup></i>	Hanna (Romney)	p.871 C→T	Gln291Term	H+: 2.6-3.2	H+: +0.6	Nueva Zelanda	Galloway et al. (2000)	
<i>BMP15</i>	<i>FecX<sup>B</sup></i>	Belclare (Belclare)	p.1100 G→T	Ser367Ile	B+: 3.3±0.1	B+: 2.4±0.6	Irlanda e Inglaterra	Hanrahan et al. (2004)	
	<i>FecX<sup>G</sup></i>	Galway (Belclare - Cambridge)	p.718 C→T	Gln239Term	G+: 2.7-3.1	-	Irlanda e Inglaterra	Hanrahan et al. (2004)	
	<i>FecX<sup>L</sup></i>	Lacaune	p.962 G→A	Cys321Tyr	L+: 3.3-7.2	L+: 1.75	Francia	Bodin et al. (2007)	
	<i>FecX<sup>R</sup></i>	Aragonesa	p.525-541 del (17 bp)	208Term	R+: 2.6	R+: 1.7	España	Martinez-Royo et al. (2008) Monteagudo et al. (2009)	
	<i>FecX<sup>Gr</sup></i>	Grivette	p.950 C→T	Thr317Ile	GrGr: 4.5	GrGr: 2.5	Francia	Demars et al. (2013)	
	<i>FecX<sup>O</sup></i>	Olkuska	p. 1009 A→C	Asn337His	OO: 3.2	OO: 3.0	Polonia	Demars et al. (2013)	
	<i>FecX<sup>Bar</sup></i>	Barbara Tunesina	p. 301 G→T; 302_304delCTA; 310insC	Ala101Cys Ter113	+/Bar: 2.0±0.7	+/Bar: 1.4±0.5	Túnez	Lassoued et al. (2017)	
	<i>G1 - G7</i>	(Belclare - Cambridge)	p. 260 G→A	Arg87His (G1), Sin cambio (G2,G3,G5), Glu241Lys (G4), Val332Ile (G6), Val371Met (G7)	-	-	Irlanda e Inglaterra	Hanrahan et al. (2004)	
	<i>GDF9</i>	<i>FecG<sup>H</sup></i>	High fertility (Belclare - Cambridge)	p. 1184 C→T	Ser395Phe	H+: 4.3	-	Irlanda e Inglaterra	Hanrahan et al. (2004)
		<i>FecG<sup>T</sup></i>	Toka islandesa	p.1279 A→>>C	Ser427Arg	T+: +1.2	T+: +0.7	Islandia	Nicol et al. (2009)
<i>FecG<sup>E</sup></i>		Santa Inés	p.1034T→>G	Phe345Cys	EE: 2.2	EE: 1.7	Brasil	Silva et al. (2010)	
<i>FecG<sup>V</sup></i>		Vacaria (Ile de France)	p. 943C→T	Arg315Cys	V+: 2.1	V+: 1.6	Brasil	Souza et al. (2014)	
<i>FecG<sup>NWS</sup></i> o <i>FecG<sup>F</sup></i>		Oveja blanca Noruega, Finnsheep	p. 1111G→A	Val371Met	NWSNWS: 2.4 FF: 4.4	NWSNWS: 2.3 FF: 0.46-0.57 más corderos	Noruega Irlanda e Inglaterra	Våge et al. (2013) Mullen y Hanrahan (2014)	

p. = posición en la secuencia nucleotídica, A = Adenina, G = Guanina, C = Citocina, T = Timina, Gln = Glutamina, Arg = Arginina, Thr = Treonina, Lys = Lisina, Val = Valina, Asp = Ácido aspártico, Ser = Serina, Ile = Isoleucina, Cys = Cisteína, Tyr = Tirosina, Asn = Asparagina, His = Histidina, Ala = Alanina, Leu = Leucina, Glu = Ácido glutámico, Met = Metionina, Phe = Fenilalanina, BB = booroola homocigota, M+ = Mehraban heterocigota, H+ = Hanna heterocigota, I+ = Inverdale heterocigota, B+ = Belclare heterocigota, G+ = Galway heterocigota, L+ = Lacaune heterocigota, R+ = raza aragonesa heterocigota, GrGr = Grivette homocigota, OO = Olkuska homocigota, +/Bar = Bárbara tunecina heterocigota, H+ = alta prolificidad heterocigota, T+ = Toka heterocigota, EE = Embraja homocigota, V+ = Vecaria heterocigota NWSNWS = ovejas blanca noruega homocigota, FF = Finnsheep homocigota.



Sin embargo, en algunas razas de ovinos con doble copia mutada tienen una alta tasa ovulatoria y prolificidad. Las variantes genéticas encontradas en estos genes de la fecundidad pueden ser utilizadas en la selección asistida por genes para implementar programas masivos de reproducción y de mejoramiento genético, y mejorar la eficiencia reproductiva y rentabilidad del rebaño.

## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el financiamiento en los estudios de doctorado del primer autor, y al Colegio de Postgraduados por el financiamiento de toda la investigación.

## LITERATURA CITADA

- Abdoli, R., Zamani, P., Deljou, A., & Rezvan, H. (2013). Association of BMPR-1B and GDF9 genes polymorphisms and secondary protein structure changes with reproduction traits in Mehraban ewes. *Gene*, 524(2), 296–303. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.03.133>
- Bodensteiner, K. J., Clay, C. M., Moeller, C. L., & Sawyer, H. R. (1999). Molecular Cloning of the Ovine Growth/Differentiation Factor-9 Gene and Expression of Growth/Differentiation Factor-9 in Ovine and Bovine Ovaries. *Biology of Reproduction*, 60(2), 381–386. <https://doi.org/10.1095/biolreprod60.2.381>
- 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>
- Chu, M., Jia, L., Zhang, Y., Jin, M., Chen, H., Fang, L., ... Li, K. (2011). Polymorphisms of coding region of BMPR-1B gene and their relationship with litter size in sheep. *Molecular Biology Reports*, 38(6), 4071–4076. <https://doi.org/10.1007/s11033-010-0526-z>
- Chu, M. X., Liu, Z. H., Jiao, C. L., He, Y. Q., Fang, L., Ye, S. C., ... Wang, J. Y. (2007). Mutations in BMPR-1B and BMP-15 genes are associated with litter size in Small Tailed Han sheep (*Ovis aries*). *Journal of Animal Science*, 85(3), 598–603. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-324>
- Davis, G. H., Balakrishnan, L., Ross, I. K., Wilson, T., Galloway, S. M., Lumsden, B. M., ... Notter, D. R. (2006). Investigation of the Booroola (FecB) and Inverdale (FecXI) mutations in 21 prolific breeds and strains of sheep sampled in 13 countries. *Animal Reproduction Science*, 92(1–2), 87–96. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2005.06.001>
- Davis, George Henry. (2005). Major genes affecting ovulation rate in sheep. *Genetics Selection Evolution*, 37 Suppl 1, S11–S23. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-37-S1-S11>
- De Castro, F. C., Cruz, M. H. C., & Leal, C. L. V. (2016). Role of Growth differentiation factor 9 and bone morphogenetic protein 15 in ovarian function and their importance in mammalian female fertility - A review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 29(8), 1065–1074. <https://doi.org/10.5713/ajas.15.0797>
- Demars, J., Fabre, S., Sarry, J., Rossetti, R., Gilbert, H., Persani, L., ... Bodin, L. (2013). Genome-wide association studies identify two novel BMP15 mutations responsible for an atypical hyperprolificacy phenotype in sheep. *PLoS Genetics*, 9(4), e1003482. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003482>
- Galloway, S. M., McNatty, K. P., Cambridge, L. M., Laitinen, M. P. E., Juengel, J. L., Jokiranta, T. S., ... 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>
- 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>
- Guo, X., Wang, X., Di, R., Liu, Q., Hu, W., He, X., ... Chu, M. (2018). Metabolic effects of FecB gene on follicular fluid and ovarian vein serum in sheep (*Ovis aries*). *International Journal of Molecular Sciences*, 19(2), 1–14. <https://doi.org/10.3390/ijms19020539>
- 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*). *Biology of Reproduction*, 70(4), 900–909. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.103.023093>
- Juengel, J. L., Davis, G. H., & McNatty, K. P. (2013). Using sheep lines with mutations in single genes to better understand ovarian function. *Reproduction*, 146(4), 111–123. <https://doi.org/10.1530/REP-12-0509>
- Lassoued, N., Benkhilil, Z., Woloszyn, F., Rejeb, A., Aouina, M., Rekik, M., ... Bedhiaf-Romdhani, S. (2017). FecXBar a novel BMP15 mutation responsible for prolificacy and female sterility in Tunisian Barbarine sheep. *BMC Genetics*, 18(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12863-017-0510-x>
- Martinez-Royo, A., Jurado, J. J., Smulders, J. P., Martí, J. I., Alabart, J. L., Roche, A., ... 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., ... 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>
- Miao, X., Luo, Q., Zhao, H., & Qin, X. (2016). Ovarian proteomic study reveals the possible molecular mechanism for hyperprolificacy of Small Tail Han sheep. *Scientific Reports*, 6, 1–10. <https://doi.org/10.1038/srep27606>
- Miyoshi, T., Otsuka, F., Nakamura, E., Inagaki, K., Ogura-ochi, K., Tsukamoto, N., ... Makino, H. (2012). Regulatory role of kit ligand-c-kit interaction and oocyte factors in steroidogenesis by rat granulosa cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 358(1), 18–26. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2012.02.011>
- Monteagudo, V. L., Ponz, R., Tejedor, M. T., Laviña, A., & Sierra, I. (2009). A 17 bp 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), 139–146. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.01.005>
- Moore, R. K., & Shimasaki, S. (2005). Molecular biology and physiological role of the oocyte factor, BMP-15. *Molecular and Cellular*

- Endocrinology, 234(1), 67–73. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2004.10.012>
- Mullen, M. P., & Hanrahan, J. P. (2014). Direct evidence on the contribution of a missense mutation in GDF9 to variation in ovulation rate of Finnsheep. *PLoS ONE*, 9(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095251>
- Mulsant, P., Lecerf, F., Fabre, S., Schibler, L., Monget, P., Lanneluc, I., ... Elsen, J.-M. (2001). Mutation in bone morphogenetic protein receptor-1B is associated with increased ovulation rate in Booroola Mérimo ewes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(9), 5104–5109. <https://doi.org/10.1073/pnas.091577598>
- Myers, M., & Pangas, S. A. (2010). Regulatory roles of transforming growth factor beta family members in folliculogenesis. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine*, 2(1), 117–125. <https://doi.org/10.1002/wsbm.21>
- Nicol, L., Bishop, C. S., Pong-Wong, R., Bendixen, C., Holm, L.-E., Rhind, M. S., & Mcneilly, S. A. (2009). Specific GDF9 gene results in sterility in Thoka sheep. *Reproduction*, 138(6), 921–933. <https://doi.org/10.1530/REP-09-0193>
- Orisaka, M., Orisaka, S., Jiang, J.-Y., Craig, J., Wang, Y., Kotsuji, F., & Tsang, B. K. (2006). Growth Differentiation Factor 9 Is Antiapoptotic during Follicular Development from Preantral to Early Antral Stage. *Molecular Endocrinology*, 20(10), 2456–2468. <https://doi.org/10.1210/me.2005-0357>
- Otsuka, F., McTavish, K. J., & Shimasaki, S. (2011). Integral role of GDF-9 and BMP-15 in ovarian function. *Molecular Reproduction and Development*. <https://doi.org/10.1002/mrd.21265>
- Reader, K. L., Haydon, L. J., Littlejohn, R. P., Juengel, J. L., & McNatty, K. P. (2012). Booroola BMPR1B mutation alters early follicular development and oocyte ultrastructure in sheep. *Reproduction, Fertility and Development*, 24(2), 353–361. <https://doi.org/10.1071/RD11095>
- Sadighi, M., Bodensteiner, K. J., Beattie, A. E., & Galloway, S. M. (2002). Genetic mapping of ovine growth differentiation factor 9 (GDF9) to sheep chromosome 5. *Animal Genetics*, 33(3), 244–245. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2052.2002.t01-11-00876.x>
- Sanfins, A., Rodrigues, P., & Albertini, F. D. (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>
- Silva, B. D. M., Castro, E. A., Souza, C. J. H., Paiva, S. R., Sartori, R., Franco, M. M., ... Melo, E. O. (2010). A new polymorphism in the growth and differentiation factor 9 (GDF9) gene is associated with increased ovulation rate and prolificacy in homozygous sheep. *Animal Genetics*, 42, 89–92. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2010.02078.x>
- Souza, C. J. H., MacDougall, C., Campbell, B. K., McNeilly, A. S., & Baird, D. T. (2001). The Booroola (FecB) phenotype is associated with a mutation in the bone morphogenetic receptor type 1 B (BMPR1B) gene. *Journal of Endocrinology*, 169(2), R1–R6. <https://doi.org/10.1677/joe.0.169R001>
- Souza, C. J. H., McNeilly, A. S., Benavides, M. V., Melo, E. O., & Moraes, J. C. F. (2014). Mutation in the protease cleavage site of GDF9 increases ovulation rate and litter size in heterozygous ewes and causes infertility in homozygous ewes. *Animal Genetics*, 45(5), 732–739. <https://doi.org/10.1111/age.12190>
- Strauss, J. F., & Williams, C. J. (2019). Ovarian Life Cycle. In J. S. R. B. A. Gargiulo (Ed.), *Yen & Jaffe's Reproductive Endocrinology: Physiology, Pathophysiology, and Clinical Management: Eighth Edition (Eighth Ed., pp. 167-205.e9)*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-47912-7.00008-1>
- Tang, J., Hu, W., Di, R., Liu, Q., Wang, X., Zhang, X., ... Chu, M. (2018). Expression analysis of the prolific candidate genes, BMPR1B, BMP15, and GDF9 in Small Tail Han ewes with three fecundity (FecB gene) genotypes. *Animals*, 8(166), 1–14. <https://doi.org/10.3390/ani8100166>
- Våge, I. D., Husdal, M., Kent, P. M., Klemetsdal, G., & Boman, A. I. (2013). A missense mutation in growth differentiation factor 9 (GDF9) is strongly associated with litter size in sheep. *BMC Genetics*, 14(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-14-1>
- Wilson, T., Wu, X., Juengel, L. J., Ross, K. I., Lumsden, M. J., Lord, A. E., ... Montgomery, W. G. (2001). Highly prolific Booroola sheep have a mutation in the intracellular kinase domain of bone morphogenetic protein 1B receptor (ALK-6) that is expressed in both oocytes and granulosa cells. *Biology of Reproduction*, 64(4), 1225–1235. <https://doi.org/10.1095/biolreprod64.4.1225>

