



# **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

## **CAMPUS MONTECILLO**

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD  
GANADERÍA

## **L-ARGININA Y SU RELACIÓN CON LA TASA OVULATORIA EN OVEJAS**

**JOSÉ ANTONIO HERNÁNDEZ MARÍN**

### **TESIS**

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE

### **MAESTRO EN CIENCIAS**

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2009

# Ciencia Animal



**Maestro en Ciencias**

**REPRODUCCIÓN EN RUMIANTES**

**2009**

La presente tesis titulada “**L-ARGININA Y SU RELACIÓN EN LA TASA OVULATORIA EN OVEJAS**”, realizada por el alumno **JOSÉ ANTONIO HERNÁNDEZ MARÍN**, bajo la dirección del consejo particular, ha sido revisada y aprobada por el mismo, y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS

RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

GANADERÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



DR. JAIME GALLEGOS SÁNCHEZ

ASESOR



DR. PONCIANO PÉREZ HERNANDEZ

ASESOR



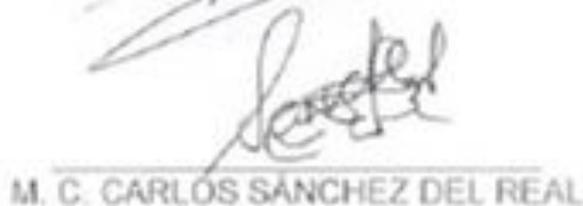
DR. ARTURO PRO MARTINEZ

ASESOR



DR. CÉSAR CORTÉZ ROMERO

ASESOR



M. C. CARLOS SÁNCHEZ DEL REAL

Montecillo, Texcoco, estado de México. Septiembre 2009.

A mi Familia

Mis padres, José Antonio Hernández Rosales y María de los Ángeles Marín Ruíz

Mis hermanos, David Alejandro, Alan e Iván

Por su gran amor, cariño y apoyo incondicional, este logro también es de ustedes.  
Dios los bendiga.

A la Familia Hernández Rosales y a la dinastía Marín

Por los grandes momentos que hemos compartido y por mantenernos unidos, aún en  
la distancia.

A la Familia Patiño Sánchez

Por nuestra gran amistad, apoyo incondicional y por brindarme un trato especial.

A mi amigo Rigoberto Patiño Sánchez

Admiro el coraje que tienes para superarte en la vida.

A mis compañeros del Colegio de Postgraduados y al Equipo de Soccer de Ciencia  
Animal, en especial al portador de la camiseta número 20, que antes de ser mi  
profesor, lo considero un gran amigo.

A Violeta Vidal Valdés † ...por la dicha de conocerte.

A la Familia Maki Díaz

Por permitirme ser parte de ellos, por su gran apoyo y amistad, estaré siempre  
agradecido con ustedes.

A mi Griselda

Por aceptarme con mis defectos y virtudes, y seguir juntos en esta vida maravillosa.  
Te amo.

*José Antonio Hernández Marín*

## AGRADECIMIENTOS

A **DIOS** por brindarme la oportunidad de lograr una meta más en la vida.

Al **Colegio de Postgraduados** a través del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACYT**), quien financió mi estancia durante la Maestría y parte del Proyecto de Investigación.

A la Línea de Investigación: Sistemas de Producción Agrícola, Pecuaria, Forestal, Acuícola y Pesquero (**SPAPFAyP, Línea 11**) y al Laboratorio de Reproducción de Ovinos y Caprinos (**LaROCa**), expreso mi más sincero agradecimiento, por brindarme el financiamiento para la realización del Proyecto de Investigación.

Al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (**COMECYT**), quien proporcionó los recursos necesarios para el escrito de la presente, a través del **Programa BECA- TESIS 2008**.

A los integrantes del **Consejo Particular** por el esfuerzo, la dedicación, el tiempo y el apoyo brindado, pero sobre todo por la infinita paciencia que tuvieron conmigo para la culminación de este estudio.

A mi Profesor Consejero de Tesis, el **Dr. Jaime GALLEGOS SÁNCHEZ** que con sus acertadas sugerencias y críticas constructivas, influyeron en mi formación, que a través de su calidad humana, me enseñó la filosofía del trabajo.

Al **Dr. Ponciano PÉREZ HERNÁNDEZ**, agradezco su amistad y confianza, y la participación en la revisión y corrección del presente estudio.

Al **Dr. Arturo PRÓ MARTÍNEZ**, por conservar nuestra amistad, por el esfuerzo al mejorar la corrección de estilo y redacción de la Tesis y el Artículo Científico.

Al **Dr. César CORTEZ ROMERO**, por su sincera amistad y compañerismo, por los conocimientos transmitidos durante mis estudios de Maestría, por sus acertadas sugerencias, y por su gran participación en la realización de esta Investigación.

AL **MC Carlos SÁNCHEZ DEL REAL**, por su colaboración para la realización del Proyecto de Investigación.

Al equipo de trabajo del Laboratorio de Reproducción de Ovinos y Caprinos (**LaROCa**) en especial a la **Dra. en Ciencias C. Alejandra HERRERA CORREDOR**, **MC Gladis MORALES TERÁN** y al **MC Carlos Guillermo GERMÁN ALARCÓN**, por su apoyo incondicional durante el desarrollo del experimento, que al compartir sus experiencias, ampliaron mis conocimientos mediante sus atinadas críticas constructivas. Muchas gracias.



*Mis ovejas conocen mi voz y yo las conozco a ellas.*

*Ellas me siguen.*

*Juan 10:27*

## CONTENIDO

	Pág.
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA.....</b>	<b>2</b>
2.1. Características reproductivas de la oveja.....	2
2.1.1. Características generales.....	2
2.1.2. Definición de ciclo estral.....	2
2.1.3. Fases del ciclo estral.....	3
2.2. Fisiología de la reproducción de la oveja.....	4
2.2.1. Hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH).....	5
2.2.2. Secreción de gonadotropinas.....	5
2.3. Relación de la actividad ovárica y la alimentación en la oveja.....	6
2.3.1. Tasa ovulatoria.....	6
2.3.2. Aspectos nutricionales.....	6
2.3.3. Estrategias de alimentación.....	8
2.4. L-arginina y su importancia en reproducción.....	9
2.4.1. Características de L-arginina.....	9
2.4.2. Uso de L-arginina en la reproducción de rumiantes.....	11
2.4.3. Síntesis del óxido nítrico y su relación con el manejo reproductivo...	13
<b>III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....</b>	<b>18</b>
<b>IV. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>19</b>
4.1. Localización del área de estudio.....	19
4.2. Características de los animales experimentales.....	19
4.3. Protocolo de sincronización y asignación a los tratamientos.....	19
4.4. Adición de L-arginina en la ración alimenticia.....	20
4.5. Detección de estros.....	21
4.6. Tasa ovulatoria.....	21
4.7. Retorno al estro.....	22

4.8. Diagnóstico de gestación.....	22
4.9. Prolificidad.....	22
4.10. Variables de estudio.....	23
4.11. Análisis estadístico.....	23
<b>V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>25</b>
5.1. Manifestaciones externas de estro (MEE, %)......	25
5.2. Inicio del estro.....	27
5.3. Retorno al estro.....	31
5.4. Tasa ovulatoria.....	33
5.5. Porcentaje de gestación y parición.....	36
5.6. Prolificidad.....	39
<b>VI. CONCLUSIONES.....</b>	<b>42</b>
<b>VII. LITERATURA CITADA.....</b>	<b>43</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Composición de aminoácidos de granos de <i>Lupinus angustifolius</i> .....	10
Cuadro 2. Contenido de aminoácidos de tres especies de lupino dulce.....	11
Cuadro 3. Efecto del óxido nítrico en la producción de algunas hormonas y neuromoduladores.....	15
Cuadro 4. Descripción de los tratamientos asignados para ambas razas de ovejas.....	20
Cuadro 5. Ración alimenticia ofrecida a las ovejas durante los últimos tres días de la sincronización.....	21
Cuadro 6. Manifestaciones externas de estro de ovejas de pelo.....	25
Cuadro 7. Manifestaciones externas de estro de ovejas de lana.....	26
Cuadro 8. Inicio de estro en ovejas de pelo según tratamientos.....	28
Cuadro 9. Distribución del inicio del estro en ovejas de pelo según tratamientos.....	29
Cuadro 10. Inicio de estro en ovejas de lana según tratamientos.....	30
Cuadro 11. Distribución del inicio del estro en ovejas de lana según tratamientos.....	31
Cuadro 12. Tasa de retorno al estro en ovejas de pelo según tratamientos...	32
Cuadro 13. Tasa de retorno al estro en ovejas de lana según tratamientos...	32
Cuadro 14. Tasa ovulatoria diagnosticada por ultrasonografía en ovejas de pelo según tratamientos.....	34
Cuadro 15. Tasa ovulatoria diagnosticada por ultrasonografía en ovejas de lana según tratamientos.....	35
Cuadro 16. Tasa de gestación y parición en ovejas de pelo según	

	tratamientos.....	37
Cuadro 17.	Tasa de gestación y parición en ovejas de lana según tratamientos.....	38
Cuadro 18.	Cantidad de corderos de pelo nacidos por ovejas paridas según tratamientos.....	39

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1.</b> Representación esquemática de los perfiles hormonales responsables del ciclo estral en la oveja.....	3
<b>Figura 2.</b> Retroalimentación de los componentes del eje hipotálamo-hipófisis-ovarios, para el control de la secreción tónica de LH, FSH, estradiol y progesterona durante las fases folicular y lútea.....	4
<b>Figura 3.</b> Biosíntesis del óxido nítrico por la isoforma óxido nítrico sintetasa.....	13
<b>Figura 4.</b> Participación del óxido nítrico en el control y liberación de GnRH.....	16
<b>Figura 5.</b> Protocolo del manejo reproductivo-nutricional realizado durante el experimento en ovejas.....	22
<b>Figura 6.</b> Comparación de tasa ovulatoria de ovejas de pelo y de lana según tratamientos.....	36
<b>Figura 7.</b> Cantidad de ovejas de pelo paridas de acuerdo con el número de corderos nacidos.....	41

# L-ARGININA Y SU RELACIÓN EN LA TASA OVULATORIA EN OVEJAS

José Antonio Hernández Marín, MC

Colegio de Postgraduados, 2009

## RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar si la adición de L-arginina al alimento, durante tres días previos a la inseminación, influye en la tasa ovulatoria de ovejas de pelo y de lana. Se utilizaron 72 ovejas de pelo y 49 ovejas de lana, a las cuales se les sincronizó el estro mediante dispositivos intravaginales impregnados con progesterona (CIDR, P<sub>4</sub>:0.62 g), durante nueve días y tres días antes del retiro, se les asignó aleatoriamente a uno de cuatro tratamientos: tratamiento 1 (T1): CIDR + eCG; tratamiento 2 (T2): CIDR + eCG + L-arginina 500 mg kg<sup>-1</sup> de peso vivo; tratamiento 3 (T3): CIDR + L-arginina 500 mg kg<sup>-1</sup> de peso vivo; y tratamiento 4 (T4): solo CIDR. No se encontraron diferencias (P>0.05) en el porcentaje de manifestaciones externas de estro (MEE) en ambas razas de ovejas. Las ovejas de pelo presentaron 100% de manifestaciones externas de estro, con los cuatro tratamientos. Los porcentajes de retorno al estro, gestación y parición, así como tasa ovulatoria y prolificidad, no fueron afectados (P>0.05) por los diferentes tratamientos, en ambas razas de ovejas. El inicio de estro de las ovejas de pelo con T1, se presentó en menor tiempo (P<0.05). Las ovejas de lana con T1 y T2 iniciaron más temprano el estro (P<0.05).

Palabras clave: sincronización, *flushing*, aminoácidos neuroexcitadores, óxido nítrico.

# L-ARGININE AND ITS RELATIONSHIP IN THE OVULATORY RATE IN SHEEP

José Antonio Hernández Marín, MC

Colegio de Postgraduados, 2009

## ABSTRACT

The aim of this study was to determine if L-arginine's addition in the nutritious portion, during three previous days to the insemination, it influences in ovulatory rates of hair and wool sheep. Seventy two hair ewes and forty nine wool ewes were used, which they were synchronized mediating internal devices impregnated with progesterone (CIDR, P4: 0.62 g), during nine days, and three days before to retirement it, they were assigned randomly at one of four treatments, which were: treatment one (T1): CIDR + eCG; treatment two (T2): CIDR + eCG + L-arginine 500 mg kg<sup>-1</sup> live weight; treatment three (T3): CIDR + L-arginine 500 mg kg<sup>-1</sup> live weight; and treatment four (T4): CIDR only. They were not differences (P>0.05) in external estrus percentage (EEP) for both races. Only hair sheep presented EEP at 100% with all treatments for both races. The beginning of hair sheep estrus with T1, showed up in smaller time (P < 0.05). Wool sheep with T1 and T2 began earlier the estrus (P < 0.05)

Key Words: synchronization, *flushing*, neuroexciter amino acids, nitric oxide.

## I. INTRODUCCIÓN

Los ovinos de pelo tienen una creciente popularidad en México, encontrándose en casi todo el país, comparados con los ovinos de lana, los cuales se encuentran en las zonas centro y norte (Díaz *et al.*, 1995), pero la mayoría de los ovinocultores, con el sistema de producción tradicional, obtienen índices productivos y reproductivos muy bajos; sin embargo, investigaciones realizadas en ovinos reportaron que, al mejorarse el factor nutricional antes del empadre, se mejora la tasa de ovulación, y puede causar un incremento en el porcentaje de parición y prolificidad (Downing y Scaramuzzi, 1991), debido a un aumento en la frecuencia y amplitud de los pulsos de la hormona luteinizante (LH), aumento en la secreción de la hormona folículo estimulante (FSH) y menor cantidad de inhibina, que afecta el número de folículos con capacidad estrogénica, y que potencialmente llegan a ovular (Forcada *et al.*, 1997). Por tanto, es importante conocer el efecto que producen períodos cortos de hiperalimentación posterior a la alimentación restringida o balanceada en la respuesta reproductiva y específicamente, en la tasa ovulatoria durante la época reproductiva y el anestro estacional, con la finalidad de generar alternativas de manejo que mejoren la eficiencia reproductiva y productiva de la oveja (Rodríguez-Castillo *et al.*, 2004). Una alternativa puede ser el manejo de la ración alimenticia, adicionando aminoácidos específicos, como por ejemplo, L-arginina durante el empadre. Se conoce que durante el metabolismo de éste aminoácido, ocurre una reacción enzimática en la conversión de L-arginina en L-citrulina, donde el óxido nítrico se libera (Siasos *et al.*, 2007), y participa a nivel de sistema nervioso, aunque se desconoce el mecanismo de acción, se sugiere que puede estimular las terminaciones nerviosas de las neuronas secretoras de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), aumentar su producción y obtener mayor actividad ovulatoria (Dixit y Parvizi, 2001). Así, la hipótesis del presente estudio fue que, las ovejas con un esquema de alimentación adicionado con L-arginina, presentarán mayor actividad ovulatoria, y el objetivo fue determinar si la adición de L-arginina al alimento de las ovejas durante el empadre, favorece la tasa ovulatoria.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Características Reproductivas de la Oveja

#### 2.1.1 Características generales

La oveja (*Ovis aries*) es una especie de la familia *Bovidae*. Es poliéstrica estacional, y la duración de la época de empadre varía con la duración del día, raza y nutrición, que es regulada por el fotoperiodo. La actividad estral comienza durante la época de duración decreciente del día, en otoño. En las zonas tropicales, donde hay menor variación de la duración del día, tienden a reproducirse casi todo el año (Jainudeen *et al.*, 2002). El periodo de receptividad sexual (estro) en la oveja, es por lo general de  $30 \pm 6$  horas, la ovulación ocurre entre las 24 y 27 horas después de la aparición del estro (Yellon *et al.*, 1992). La duración del pico preovulatorio de LH es de aproximadamente 10 horas. El periodo de gestación es de  $150 \pm 5$  días (Meyer y Goodman, 1985). La mayoría de las razas ovulan uno o dos óvulos, sin embargo, la *Finnish* y la *Romanov*, ovulan de dos a cinco óvulos, e incluso llegan a ovular hasta siete óvulos (Montgomery *et al.*, 1985). Todas las características reproductivas están influenciadas por la nutrición, genética del animal y otros factores ambientales, por lo cual, el conocimiento de estos factores, permite el manejo reproductivo, el control de la ovulación y la manipulación de gametos y embriones (Castonguay *et al.*, 1990).

#### 2.1.2. Definición de ciclo estral

Estro proviene del griego “*oistros*” que significa deseo desenfrenado. El ciclo estral se define como el intervalo entre dos estros, se caracteriza por importantes cambios morfológicos y de comportamiento, interconectados a una dinámica neuroendócrina. Desde el punto de vista biológico, el ciclo estral permite la foliculogénesis, la ovulación, la formación de un cuerpo lúteo (CL), el transporte y sobrevivencia de espermatozoides, el contacto de gametos femeninos con masculinos y la anidación del cigoto (Chemineau *et al.*, 1992).

### 2.1.3. Fases del ciclo estral

El ciclo estral está dividido en dos fases, una folicular y una lútea. La primera corresponde al proestro y al estro, mientras que la segunda al metaestro y diestro, estos periodos ocurren de manera cíclica y secuencial (McDonald, 1989; Figura 1).

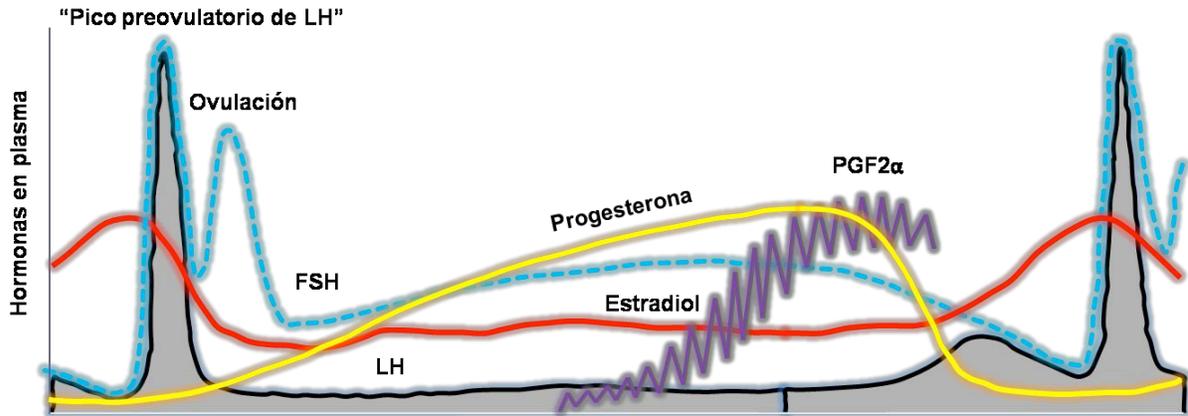


Figura 1. Representación esquemática de los perfiles hormonales responsables del ciclo estral en la oveja. (LH: Hormona Luteinizante, FSH: Hormona Folículo Estimulante, PGF2 $\alpha$ : Prostaglandina F2  $\alpha$ ). Modificado de Thiéry y Martin (1991).

La fase folicular comprende desde la lisis del CL hasta la ovulación, con una duración de 2 a 3 días y no refleja la duración del crecimiento de los folículos de *Graff* (Hafez y Hafez, 2002). En la fase lútea, el folículo de *Graff* ovulado se llena por un coágulo de sangre constituyendo lo que se conoce como cuerpo hemorrágico (Niswender *et al.*, 2000).

Scaramuzzi *et al.* (1993) propusieron un modelo para el crecimiento folicular desde la etapa primordial hasta la del folículo ovulatorio en la oveja. Los folículos pueden estar “inactivos” (primordiales), destinados al crecimiento (preantrales), pueden ser ovulatorios o atrésicos. Los folículos preantrales reaccionan a las gonadotropinas, pero pueden seguir creciendo en ausencia de FSH y LH. En una etapa posterior de crecimiento, los folículos preantrales son sensibles a las gonadotropinas. La ovulación tiene lugar después de una oleada de LH, en caso contrario, ocurre atresia.

## 2.2. Fisiología de la Reproducción en la Oveja

El ciclo estral está regulado por la retroalimentación ejercida entre mensajes endócrinos liberados por los componentes del eje hipotalámico-hipofisiario-ovárico (Buffet y Bouchard, 2001; Figura 2).

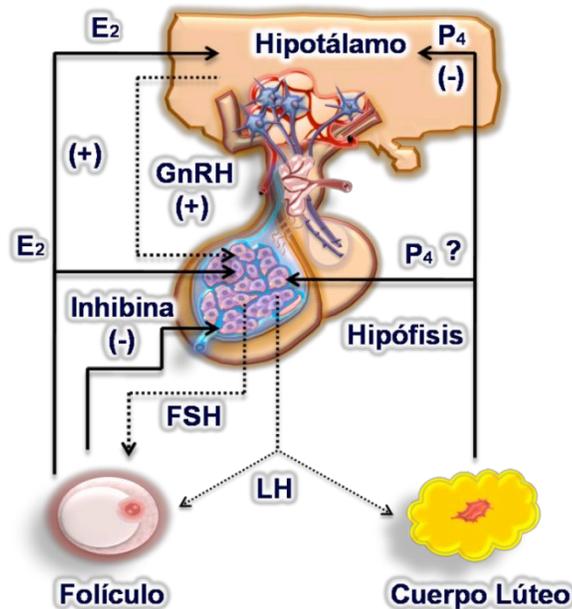


Figura 2. Retroalimentación de los componentes del eje hipotalámico-hipofisiario-ovárico, para el control de la secreción de LH, FSH, estradiol y progesterona durante la fase folicular y lútea. (GnRH: Hormona Liberadora de las Gonadotropinas, E<sub>2</sub>: Estradiol, P<sub>4</sub>: Progesterona, FSH: Hormona Folículo Estimulante, LH: Hormona Luteinizante). Modificado de Marian (1982).

Dichas señales, de origen hipotalámico e hipofisiario, se envían para establecer una fase folicular y una lútea, que en conjunto, bajo condiciones normales, dan como resultado un ciclo estral de 17 días en la oveja. La función ovárica es controlada por las hormonas gonadotrópicas LH y FSH, secretadas por la hipófisis (Wuttke *et al.*, 1998). Por su parte, el patrón de secreción de LH y FSH está regido principalmente por la frecuencia del pulso de la Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH) secretada por el hipotálamo, cuyo patrón de secreción (pulso y frecuencia) es modulado por la retroalimentación de señales endócrinas ováricas. Sin embargo, debido a la naturaleza cíclica de la función ovárica, los efectos de LH y FSH en la función ovárica, dependen de la etapa del ciclo estral, ya que conforme éste progresa, el tejido endócrino dominante, cambia de un folículo (fase folicular) a un cuerpo lúteo (fase lútea; Webb *et al.*, 2002).

Las variaciones cíclicas de las hormonas FSH y LH están a su vez, bajo el control del  $E_2$  y  $P_4$  producidas por el ovario, así como otras peptídicas como inhibina. La interacción de las señales de dichas hormonas esteroides y peptídicas a nivel ovárico, son críticas para que ocurra en forma secuenciada, el desarrollo folicular, la ovulación, el proceso de luteinización, la síntesis y secreción de  $P_4$  y el proceso de reconocimiento materno de la preñez (Spencer y Bazer, 2002).

### 2.2.1. Hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH)

La GnRH es un decapeptido neuroendócrino que ha sido identificado químicamente en los mamíferos: pyro-Glu<sup>1</sup>-His<sup>2</sup>-Ser<sup>4</sup>-Tyr<sup>5</sup>-Gly<sup>6</sup>-Leu<sup>7</sup>-Arg<sup>8</sup>-Pro<sup>9</sup>-Gly<sup>10</sup>-NH<sub>2</sub> (Hawes y Conn, 1991). Producido en las neuronas de GnRH ubicadas en el bulbo olfatorio (Wray, 2001) migran y colonizan la base frontal del cerebro y alrededor del área preóptica y el hipotálamo medio basal (Wray, 2002). La GnRH se libera en el sistema portal-hipotálamo-hipofisario a través del cual llega a la adenohipófisis (Hawes y Conn, 1991). La GnRH, tiene como función estimular la secreción de LH. Un gran pico de GnRH se secreta previo al pico preovulatorio de LH, y durante la fase folicular se incrementa secreción del estradiol, que estimula el pico preovulatorio de GnRH (Caraty, 2001).

### 2.2.2. Secreción de gonadotropinas

Los niveles tónicos o basales de LH actúan junto con FSH para inducir la secreción de estrógenos del folículo ovárico. El pico preovulatorio de LH, es responsable de la ruptura de la pared folicular y la ovulación. La LH estimula las células intersticiales de los ovarios y de los testículos. Un incremento en la concentración de la circulación de estrógenos tiene un efecto positivo de retroalimentación en el hipotálamo, induciendo la liberación del pico de GnRH, el cual es acompañado por el pico preovulatorio de LH y FSH. Este pico dura de seis a 12 horas, como responsable para la ovulación (Hafez y Hafez, 2000). La frecuencia de los pulsos de LH, depende de la respuesta al efecto de retroalimentación negativa del estradiol, dicha respuesta es baja durante la estación de actividad reproductiva, aumenta en la transición al anestro y permanece elevada al inicio de la siguiente temporada reproductiva, cuando vuelve a

disminuir (Foster y Olster, 1985). La melatonina, modula los cambios en la frecuencia de secreción de los pulsos de LH durante el fotoperiodo en las ovejas, al cambiar la sensibilidad al hipotálamo por efecto negativo de E<sub>2</sub> (Gallegos-Sánchez *et al.*, 1997).

### 2.3. Relación de la Actividad Ovárica y la Alimentación en la Oveja

#### 2.3.1. Tasa ovulatoria

La tasa ovulatoria es uno de los componentes más importantes del funcionamiento reproductivo en ovejas. Existe evidencia del efecto que tiene la edad al incrementarse la tasa ovulatoria, así como el genotipo y la estación reproductiva (Rhind, 1992). En rumiantes, la tasa ovulatoria depende del número de folículos ováricos que crecen y maduran, por lo cual, el número de folículos ováricos puede alterarse en diferentes etapas (Gunn, 1977). En ovejas, la ovulación y la tasa ovulatoria varían dependiendo del fotoperiodo, temperatura, edad y raza, así como también del peso y estado nutricional (Thomas *et al.*, 1987). Así, el incremento del peso o la condición corporal de las ovejas al empadre (efecto de estado nutricional crónico), o el incremento del consumo de los nutrientes en un periodo corto antes del empadre (estado nutricional agudo, *flushing*), frecuentemente resulta en un incremento en la tasa ovulatoria (Coop, 1966). Rattray (1977) indicó un incremento en tasas gemelares de 5 a 20 % por cada 5 kg que incrementaba en peso corporal las ovejas al empadre.

#### 2.3.2. Aspectos nutricionales

La nutrición es uno de los principales factores ambientales que influye en la función y eficiencia reproductivas en los rumiantes (Smith, 1988). De acuerdo con López *et al.* (2001) algunos factores nutricionales modulan ciertos procesos reproductivos como el inicio de los ciclos estrales, desarrollo folicular, calidad del ovocito y desarrollo embrionario temprano. Considerando que el desarrollo folicular se controla principalmente por la acción coordinada de las gonadotropinas, entonces los cambios en la secreción de estas hormonas por efecto de la nutrición, afectan el desarrollo folicular (Gutiérrez, 2001). Una inadecuada nutrición se caracteriza por un deficiente perfil endócrino, tanto gonadotrópico como metabólico, lo cual compromete

la función reproductiva, generando retrasos en el inicio de la pubertad, ciclos estrales irregulares y una baja eficiencia reproductiva (Popwell *et al.*, 1996). La desnutrición afecta la función del eje hipotálamo-hipófisis-ovarios, sin embargo, el punto central se encuentra en el cerebro anterior, específicamente a nivel de las neuronas que secretan GnRH (Rodríguez-Castillo y Pró-Martínez, 2005).

La eficiencia reproductiva de las ovejas depende de la respuesta ovárica a la secreción de LH y FSH en la hipófisis, como respuesta a la secreción de GnRH en el hipotálamo. Esta comunicación endocrina hipotálamo-hipófisis puede ser favorecida por la acción de compuestos que actúan como neurotransmisores, cuya actividad puede incrementarse mediante la suplementación de aminoácidos excitadores (AAE; Brann y Mahesh, 1995). Los AAE se consideran los principales neurotransmisores del sistema nervioso central (SNC) al mediar la excitación sináptica dentro del cerebro (Urbanski *et al.*, 1994). El glutamato es reconocido como un aminoácido excitador que afecta muchos procesos fisiológicos debido a la existencia de un gran número de subtipos de receptores a glutamato en el SNC (Brann y Mahesh, 1995).

En mamíferos, la activación de los receptores a AAE ha estado implicada en varios procesos fisiológicos que incluyen aspectos de aprendizaje (McDonald y Johnstone, 1990) hasta la activación del eje reproductivo durante la pubertad (Urbanski y Ojeda, 1990). El efecto de los AAE en el eje reproductivo parece ser importante en animales que muestran una reproducción estacional, debido a que en roedores, el agonista del receptor para AAE, N-metil-D-aspartato (NMDA), activa las neuronas LHRH. Los AAE promueven la liberación de las gonadotropinas, aún en roedores sin actividad reproductiva, debido al efecto inhibitorio del fotoperíodo de días cortos (Urbanski y Pierce, 1992). El ácido aspártico es un neurotransmisor que actúa vía el receptor de glutamato, estimulando la secreción de GnRH. En condiciones de alimentación normal, la concentración de ácido aspártico en las ovejas es baja y se incrementa al mejorarse la nutrición, lo que incrementa la concentración cerebral de ácido aspártico, que a su vez, incrementa la secreción de GnRH. Así, la aplicación endovenosa de N-metil-D-L-ácido aspártico en ovejas ciclando, aumenta de manera

inmediata la liberación de los pulsos de LH (Downing *et al.*, 1996). Los neurotransmisores de reciente implicación en la secreción de GnRH son las orexinas (hipocretinas), dos neuropéptidos pequeños (Sakurai *et al.*, 1998). Existen evidencias de que las orexinas están involucradas en la unión de la función reproductiva y la nutrición. Estudios inmunohistoquímicos han mostrado que la distribución de las fibras de orexinas se traslapan con el sistema de neuronas GnRH en el área septo-preóptica y la eminencia media-núcleo arcuato (Peyron *et al.*, 1998).

### 2.3.3. Estrategias de alimentación

El mecanismo fisiológico por el cual la nutrición afecta la ovulación, no está bien conocido (Scaramuzzi *et al.*, 1993). Algunos cambios en las gonadotropinas influyen en el control de la tasa ovulatoria, dejando la mediación solo a una respuesta a la nutrición. Se ha reportado que en ovejas, existe correlación positiva, negativa, o ausencia de correlación entre la secreción de gonadotropinas y la tasa ovulatoria (Scaramuzzi *et al.*, 1993).

Las ovejas pueden modificar su respuesta reproductiva en función de la percepción del ambiente nutricional, a través del número de óvulos que producen en cada ciclo ovulatorio. Este fenómeno se utiliza para aprovechar las ventajas del *flushing*, que es una antigua técnica usada en la ganadería, que consiste en cubrir los requerimientos nutricionales para que los animales ganen peso antes del apareamiento (Martin y Banchemo, 1999). Walter Heape proporcionó la primera evidencia experimental del efecto *flushing* en la tasa de partos en la oveja inglesa, en 1899. Sin embargo, Clark (1934) demostró que el efecto fue debido a un incremento en la tasa ovulatoria. El fenómeno *flushing* en hembras, llamó la atención a los fisiólogos de la reproducción, y actualmente continúa, ya que se realiza mucha investigación al respecto (Martin, 2003). Existen evidencias que las hembras de los mamíferos son sensibles al efecto de la sobrealimentación en la tasa de ovulación previo al empadre, estableciéndose que la ovulación y partos múltiples, en la mayoría de las ovejas, incrementa mejorando el nivel nutricional antes y durante la época de empadre (Fletcher, 1971).

El *flushing* puede incrementar la tasa ovulatoria en un 20% o más, pero la condición corporal tiene influencia en esta respuesta. La respuesta al *flushing* ha sido observada al complementar la alimentación con energía y proteína (Cruickshank *et al.*, 1988). Al complementar una dieta balanceada, se logra la mayor respuesta del *flushing*, esto ocurre cuando se incrementa la alimentación de 3 a 4 semanas previas al empadre. La tasa ovulatoria se incrementa menos en corderas o primiparas, que en ovejas adultas después del *flushing* (Torrell *et al.*, 1972).

## 2.4. L-Arginina y su Importancia en Reproducción

### 2.4.1. Características de L-Arginina

L-arginina es un aminoácido esencial para el crecimiento normal y el desarrollo de los mamíferos jóvenes, y está considerado como no esencial solamente en la etapa adulta (Visek, 1986). La inmunonutrición se define como el efecto de la provisión de nutrientes específicos en la función inmune. El aminoácido arginina, es de particular interés en este sentido, porque se ha demostrado que tiene atractivas propiedades biológicas; estimula la liberación de las hormonas anabólicas, mejora el balance del nitrógeno y además, es inmunoestimulador y timotrópico (Barbul *et al.*, 1983).

La bioquímica y fisiología de L-arginina tiene que ser reconsiderada a la luz del reciente descubrimiento de que, este aminoácido es el único sustrato de todas las isoformas de la óxido nítrico sintetasa. La generación del óxido nítrico, una molécula versátil que da señales a procesos e inmunodefensa no específica, está entrelazado con síntesis, catabolismo y transporte de arginina, la cual participa en última instancia, en la regulación balanceada entre la producción normal y patofisiológica del óxido nítrico. La compleja composición del cerebro a nivel celular, está reflejada en una compleja distribución diferencial de las enzimas del metabolismo de la arginina (Wiesinger, 2001).

La arginina es un constituyente integral del ciclo de la urea. En 1932, Krebs (Citado por Rogers y Visek, 1985) identificó el ciclo de la urea y notó que la producción de la urea de amoníaco por el hígado, fue muy rápida debido a la adición de uno o tres

aminoácidos: arginina, citrulina y ornitina. Además observó que al adicionar amoniaco a la ornitina, sintetizaba citrulina, pero al adicionar amoniaco a la citrulina, sintetizaba arginina.

Existen varios estudios relacionados con arginina (ácido 2-amino-5-guanidinovalérico) y su metabolismo durante los pasados 100 años. La arginina tiene funciones importantes en el metabolismo del nitrógeno, creatina y la síntesis de poliamina, y es el mejor sustrato de la producción del óxido nítrico, fue aislado en forma cristalina de semilleros de lupinos (Schulze y Steiger, 1886); y un poco después, fue identificado como un componente de la proteína animal (Hedin, 1895).

En un análisis de la composición de *Lupinus angustifolius*, White *et al.* (2002) encontraron mayor cantidad de arginina en el perfil de aminoácidos esenciales (Cuadro 1). Mientras que, Sujak *et al.* (2006) realizaron un análisis de la composición y del perfil nutricional de *Lupinus luteus*, *L. angustifolius* y *L. albus*), y encontraron que el ácido glutámico y aspártico, y la arginina, fueron los principales aminoácidos en todas las proteínas aisladas de lupino (Cuadro 2).

Cuadro 1. Composición de aminoácidos de granos de *Lupinus angustifolius*.

Aminoácido esencial	g <sup>-1</sup> 16 g N
Arginina	12.26
Cistina	1.56
Metionina	0.56
Treonina	3.79
Valina	4.24
Isoleucina	4.46
Leucina	7.47
Fenilalanina	4.46
Lisina	5.35
Histidina	2.90

N: nitrógeno, Modificado de White *et al.* (2002).

Cuadro 2. Contenido de aminoácidos de tres especies de lupino dulce.

Aminoácido (g <sup>-1</sup> 16 g N)	<i>Lupinus luteus</i>	<i>Lupinus angustifolius</i>	<i>Lupinus albus</i>
Arginina	10.0	10.8	11.4
Serina	4.3	4.0	4.5
Prolina	3.2	3.5	3.5
Glycina	3.7	4.1	4.3
Alanina	2.9	3.1	3.2
Ácido Glutámico	22.0	23.1	23.5
Ácido Aspártico	9.7	10.0	10.5

N: nitrógeno, Modificado de Sujak *et al.* (2006).

La complementación de la ración alimenticia con granos de lupino se caracteriza por los efectos generales en la biogénesis de la glucosa, y la complementación con nutrientes altamente energéticos y el incremento en la tasa ovulatoria en las ovejas, parece estar mediada por las rutas biológicas asociadas con la síntesis y utilización de la glucosa (Teleni *et al.*, 1989). La explicación convencional para esta respuesta ha sido que el lupino, además de su alto contenido protéico y su bajo contenido en almidón (Knight *et al.*, 1975), en rumiantes incrementa la tasa de glucosa entrante, proporcionando altos niveles de substratos energéticos, particularmente acetato, un importante substrato para la gluconeogénesis (Teleni *et al.*, 1989).

#### 2.4.2. Uso de L-arginina en la reproducción de rumiantes

La arginina (ARG) es un aminoácido básico que cruza muy bien la barrera sanguíneo-cerebral (Pardridge, 1983). En el cerebro, ARG se metaboliza a ornitina (ORN) y ésta se convierte a glutamato (GLU, Wroblewski *et al.*, 1985). El efecto de ARG en la secreción de LH puede, por lo tanto, ser atribuida por lo menos parcialmente para su conversión a ORN, porque este aminoácido también incrementa las concentraciones de LH en plasma. El GLU puede ser el transmisor excitador dominante que regula las células neuroendócrinas hipotalámicas (van den Pool *et al.*, 1990).

Aunque el aminoácido ARG, es un estimulador potente de la secreción de la Hormona de Crecimiento (GH), su función de promover la secreción de LH es menos clara (Davis, 1972; Chew *et al.*, 1984; Davenport *et al.*, 1990a y b). Estudios previos indican un efecto estimulatorio de ARG en la liberación de GnRH y LH en animales experimentales. Por ejemplo, la pubertad fue retrasada en ratas inmaduras alimentadas con una dieta de ARG (Pau y Milner, 1982).

La mayoría de aminoácidos que son afectados por los cambios en la dieta no son importantes; en la oveja, la infusión endovenosa de precursores de neurotransmisores o de aminoácidos neutros, no afectan la secreción de LH (Downing *et al.*, 1997). Las infusiones de ARG pueden estimular la secreción de GH en corderos, ovejas adultas (Davis, 1972) y vacas (Chew *et al.*, 1984). También la ARG y la ORN, pueden incrementar la concentración de GH en plasma, cuando se introducen infusiones en corderos vía abomaso (Davenport *et al.*, 1990b) y en terneras (Davenport *et al.*, 1990a). Sin embargo, poco se sabe acerca del efecto de ARG en la secreción de LH en corderos. Recabarren *et al.* (1996) encontraron que la infusión intravenosa de 350 mM de ARG puede estimular la secreción de LH en ovejas prepúberes; indicando que ARG puede ser un constituyente importante para activar el eje hipotálamo-hipófisis durante el desarrollo puberal de la oveja. La demostración de que ARG u ORN estimulan la liberación de LH en ovejas prepúberes, indica que ambos aminoácidos pueden estimular el eje gonadotrópico durante la pubertad. La modificación en la composición de la suplementación de la dieta para corderos en crecimiento puede, por lo tanto, acelerar el procedimiento, dirigiéndose al inicio de la pubertad (Recabarren *et al.*, 1996). La complementación con ARG mezclada en la ración alimenticia de ovejas fue evaluado por Hamra *et al.* (2003) quienes utilizaron este aminoácido para evaluar su efecto en la edad a la pubertad y peso de las ovejas. Utilizaron una dosis de 500 mg kg<sup>-1</sup> de peso vivo oveja<sup>-1</sup> del aminoácido para añadirla en el alimento. Asimismo, Bulbarela-García *et al.* (2009) ofrecieron este aminoácido a dos de cinco tratamientos, a los 3 días antes del retiro de las esponjas intravaginales. La dosis de L-arginina mezclada en el alimento la determinó el autor, de acuerdo con el contenido de éste aminoácido en el

grano de *Lupinus spp.*, la cual fue  $300 \text{ mg kg}^{-1}$ ; en donde los tratamientos tres y cuatro fueron ARG=  $40 \text{ mg}$  de acetato de fluorogestona (AFG)  $12 \text{ d}^{-1}$  vía esponja intravaginal +  $300 \text{ mg kg}^{-1}$  de peso vivo oveja<sup>-1</sup> de L-arginina por tres días antes de retirar las esponjas, y ARGAP=  $40 \text{ mg}$  de AFG  $12 \text{ d}^{-1}$  +  $300 \text{ mg}^{-1} \text{ kg}^{-1}$  de peso vivo oveja<sup>-1</sup> de L-arginina + 6% de aceite de pescado en la ración alimenticia durante tres días, para evaluar su efecto en las variables reproductivas esperadas posterior a la sincronización del estro, y encontró un incremento en la tasa ovulatoria y la prolificidad en ovejas de pelo, pero con un mayor tiempo de respuesta, menor porcentaje de estros y porcentaje de gestación.

### 2.4.3. Síntesis del óxido nítrico y su relación con el manejo reproductivo

En 1987, la comunidad científica descubrió que el cuerpo humano producía óxido nítrico (ON). El único mecanismo subyacente de la producción de ON, involucra la oxidación del grupo amino de ARG a ON (Figura 3), utilizando oxígeno molecular como un cosubstrato y la formación de L-Citrulina, como el segundo producto de la reacción (Tsikas, 2007).

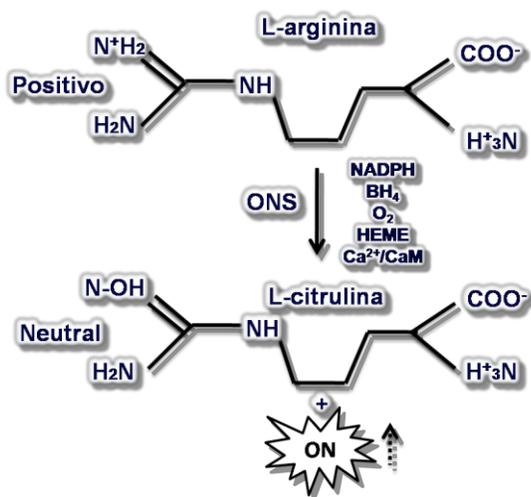


Figura 3. Biosíntesis del óxido nítrico por la isoforma óxido nítrico sintetasa. El ON se forma en las últimas dos etapas, ambas etapas requieren (NADPH), O<sub>2</sub>, Ca<sup>2+</sup>, y calmodulina (CaM), son acelerados por la tetrahidrobiopterina (BH<sub>4</sub>) en acción de la óxido nítrico sintetasa (ONS). Modificado de Bredt y Snyder (1994).

El ON se sintetiza de ARG por ON sintetasa (ONS), una enzima con tres isoformas. Dos de ellas son, neuronal y endotelial (nONS y eONS, respectivamente), mientras

que la tercera, iONS, es inducible. El ON participa en múltiples efectos biológicos, como la activación de guanilato ciclasa soluble, en ellos están las células del músculo liso, la agregación y adición de plaquetas, el crecimiento celular, la apoptosis y la neurotransmisión (Tamanini *et al.*, 2003).

Estudios *in Vivo* e *in Vitro* demostraron que, en estructuras cerebrales, el ON endógeno modula la liberación de varios neurotransmisores, como acetilcolina, catecolaminas, aminoácidos excitadores e inhibidores, serotonina, histamina y adenosina (Prast y Philippu, 2001). Investigaciones recientes implican que los neurotransmisores glutamato y óxido nítrico tienen una función importante en los procesos reproductivos de los mamíferos. Elevadas concentraciones de glutamato se encontraron en muchos núcleos hipotalámicos liberadores de GnRH. La administración de agonistas de glutamato, estimulan la liberación de GnRH/LH y el pico preovulatorio de LH. Se cree que el glutamato interviene en estos procesos por la activación de la liberación del gas neurotransmisor, el óxido nítrico, el cual estimula potentemente al GnRH, por la activación de una coenzima contenida, guanilato ciclasa, la cual inicia el incremento de la producción de cGMP y la liberación de GnRH (Dhandapani y Brann, 2000).

Debido a los mecanismos asociados con la fisiopatología de muchos procesos reproductivos, se ha investigado que el ON actúa directamente a nivel ovárico, producido por vasculatura, neuronas, células luteales, de la granulosa y de la teca; y su producción puede estar modulada por el estradiol  $17\beta$ , LH, FSH, HCG y las citocinas, que interfieren en la expresión y actividad de eONS o iONS. Éstas últimas, estimulan las gonadotropinas y la inhibición de la ovulación por los inhibidores de ONS, lo cual indica que, el ON participa en el proceso ovulatorio. Después de la ovulación, el iONS es expresado en las células luteales, pero su actividad disminuye con el desarrollo del cuerpo lúteo. Durante la fase de luteólisis, el ON estimula la síntesis de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  mientras disminuye la secreción de  $\text{P}_4$  (Tamanini *et al.*, 2003). Fridén *et al.* (2000) identificaron proteínas de iONS y eONS en el cuerpo lúteo humano, con mayor frecuencia en el área de la teca y alrededor de los vasos

sanguíneos, y demostraron *in Vitro*, que el ON disminuye la progesterona y aumenta la síntesis de prostaglandinas en células de la fase luteal tardía, y puede actuar posiblemente como un luteinizante. El sistema ovario ON/ONS parece estar involucrado en la ruptura folicular durante el proceso ovulatorio en conejas (Yamauchi *et al.*, 1997). El ON producido por los ovarios de la rata durante los últimos 2 días del desarrollo del cuerpo lúteo, incrementa la producción de PGF<sub>2α</sub> en el ovario, y disminuye la concentración de progesterona sérica llevando a la regresión del CL (Motta *et al.*, 1999), lo cual sugiere que existe un mecanismo positivo de retroalimentación entre PGF<sub>2α</sub> y el ON para asegurar la regresión lútea.

El crecimiento es la prueba que sustenta que el ON puede actuar como un transmisor en el hipotálamo (Rettori *et al.*, 1993), hipófisis (Chatterjee *et al.*, 1997) y gónadas (Faletti *et al.*, 1999b), teniendo acción estimuladora o inhibitoria en las gonadotropinas (Cuadro 3).

Cuadro 3. Efecto del óxido nítrico en la producción de algunas hormonas y neuromoduladores.

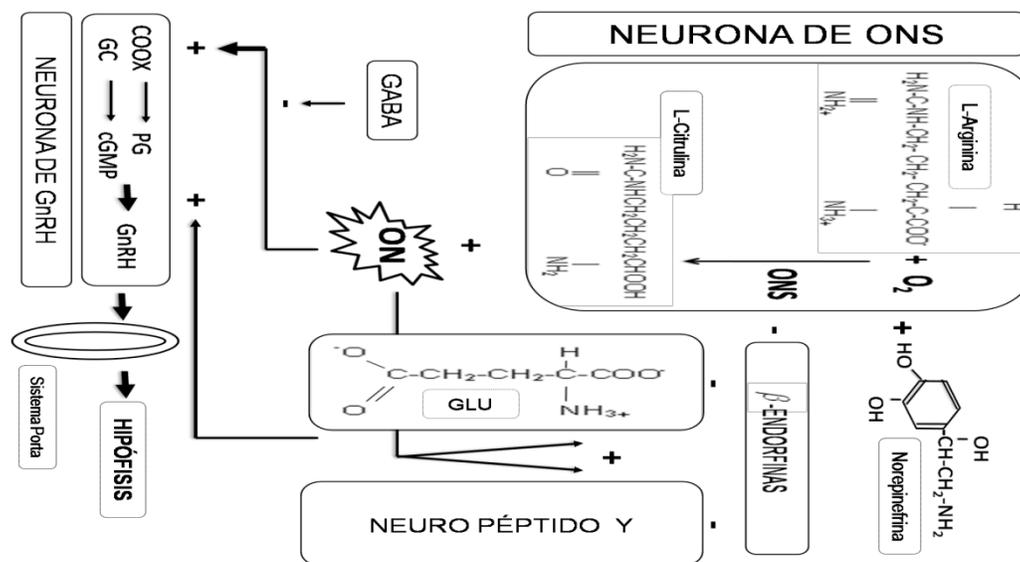
Sustancia química	Acción *	Sitio de acción	Referencia
GnRH	Estimulador	Hipotálamo	Pu <i>et al.</i> (1997)
LH, FSH	Estimulador	Hipófisis	Pinilla <i>et al.</i> (1998)
NPY	Estimulador	Hipotálamo	Bonavera y Kalra (1996)
PG	Estimulador	Hipotálamo	Faletti <i>et al.</i> (1999a)
PG	Estimulador	Ovario	Salvemini (1997)
Progesterona	Estimulador	Ovario	Mitsube <i>et al.</i> (1999)
Estradiol	Inhibidor	Ovario	Dong <i>et al.</i> (1999)

\*Acción sobre la hormona o secreción neuromoduladora. (GnRH: Hormona Liberadora de Gonadotropinas, LH: Hormona Luteinizante, FSH: Hormona Folículo Estimulante, NPY: Neuropeptido Y, PG: Prostaglandina). Adaptado de Dixit y Parvizi (2001).

El ON quizás sea un importante regulador de la secreción de GnRH (Bhat *et al.*, 1995), ya que sus neuronas están en muchos núcleos hipotalámicos, incluyendo los

sitios involucrados en la regulación de GnRH, así como el órgano vascular de las láminas terminales, área preóptica, núcleo preóptico, núcleo hipotalámico ventromedial, núcleo arcuato y la eminencia media (Grossman *et al.*, 1994). En un estudio en terneras, Honaramooz *et al.* (1999) reportaron que N-metil-D, L- ácido aspártico, un aminoácido agonista excitador, estimula la liberación parcial de LH, vía ON, mientras que las neuronas del neuropéptido Y (NPY), pueden mediar el efecto estimulador del ON en las neuronas de GnRH, desde que el sodio incrementa la liberación del NPY desde los fragmentos hipotalámicos.

Faletti *et al.* (1999a) señalaron que las  $\beta$ -endorfinas estimulan los receptores  $\mu$ -opioides en las neuronas de ON (Figura 4) para inhibir la activación y síntesis de ONS en el hipotálamo medio basal (HMB) bloqueando la acción de ON en la liberación de  $PGE_2$  y después de LHRH, por la estimulación inhibitoria del ácido gama aminobutírico (GABA) en las terminales para LHRH, que bloquean la activación de ON inducido de la ciclooxigenasa y subsecuente liberación de  $PGE_2$ .



(Efecto positivo (+), efecto negativo (-), ON: Óxido nítrico, GABA: Ácido gama aminobutírico, GC, cGMP: Guanidín metil fosfato cíclico, COX: Ciclooxigenasas, PG: Prostaglandina, GnRH: Hormona Liberadora de Gonadotropinas, Glu: Glutamato, ONS: Óxido nítrico sintetasa). Modificado de Faletti *et al.* (1999a).

Figura 4. Participación del óxido nítrico en el control y liberación de GnRH.

Se ha encontrado que con el uso de inhibidores de ONS, se reduce la inducción de esteroides y el pico preovulatorio de LH en ratas (Bonavera *et al.*, 1994) y con oligonucleótidos antisensores de nONS, disminuye el pico de LH en ratas adultas ovariectomizadas (Aguan *et al.*, 1996). Por el contrario, al utilizar un donador de ON, se estimula la liberación de GnRH de fragmentos *in Vitro* del HMB de la rata, y este efecto puede ser bloqueado por el ON de hemoglobina (Rettori *et al.*, 1993). Por lo tanto, el ON desempeña una función importante en el control del pico preovulatorio de GnRH y LH.

### III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la actualidad, la investigación en la Fisiología de la Reproducción en Rumiantes, estudia las alternativas para la sincronización de estros, mediante el uso de hormonas naturales (no sintéticas) y con tratamientos químicos (fármacos), con el fin de organizar el manejo reproductivo. Sin embargo, es de gran importancia cambiar hacia prácticas de manejo que reduzcan o eviten el uso de químicos y hormonas en los animales (Martin y Gallegos-Sánchez, 2005). En diversos estudios, se ha observado que la nutrición es un factor que influye en la función reproductiva, actúa principalmente en los ovarios y en los sistemas neuroendócrinos que regulan la ovulación. El *flushing* como estrategia nutricional, puede incrementar la tasa ovulatoria de las ovejas, sin tomar en cuenta su condición corporal (Pearsea *et al.*, 1994). La tasa ovulatoria puede incrementarse en ovejas, después de alimentarlas con granos de lupino (Lindsay, 1975; Somchit *et al.*, 2007) posiblemente por su alto contenido de L-arginina (White *et al.*, 2002). Hamra *et al.* (2003) utilizaron 0.5 g kg<sup>-1</sup> de L-arginina en ovejas Awassi y encontraron un efecto positivo para inducir la pubertad en corderas y mejorar las variables reproductivas en ovejas adultas. Sin embargo, con 0.3 g kg<sup>-1</sup> de L-arginina y 6% de aceite de pescado, Bulbarela-García *et al.* (2009) reportaron un incremento en la tasa ovulatoria y prolificidad en ovejas Pelibuey adultas, pero con menor tiempo de respuesta, porcentaje de estro y de gestación. Por lo anterior, la hipótesis del presente estudio fue que, las ovejas con un esquema de alimentación adicionando L-arginina presentan mayor actividad ovulatoria, por lo cual el objetivo fue determinar, si la adición de L-arginina en la dieta de las ovejas durante el empadre, favorece la tasa ovulatoria.

## IV. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1. Localización del área de estudio

El presente estudio se realizó en 2007, en época reproductiva durante los meses de octubre a noviembre con ovejas de pelo, y de noviembre a diciembre con ovejas de lana, en el Laboratorio de Reproducción de Ovinos y Caprinos (LaROCa) del Colegio de Postgraduados, ubicado en el km 36.5 de la carretera federal México-Texcoco en Montecillo, Municipio de Texcoco, estado de México. Geográficamente se localiza a 19° 29' N y 98° 53' O, a una altitud de 2250 m. El clima es Cb (wo) (w) (*i*) g, que corresponde a templado subhúmedo con lluvias en verano y precipitación promedio anual de 636.5 mm, con una temperatura media anual de 15.2°C (García, 1988).

### 4.2. Características de los animales experimentales

Se utilizaron 111 ovejas, 72 de pelo y 49 de lana, de 4.0±1.5 y 2.0±1.5 años de edad y 34±2.0 y 50±4.0 kg de peso, respectivamente. Durante el desarrollo del experimento, se alojaron en corrales con piso de tierra, provistos con sombra, comedero y bebedero con agua limpia.

### 4.3. Protocolo de sincronización y asignación a los tratamientos

A todas las ovejas se les sincronizó el estro mediante dispositivos intravaginales impregnados con progesterona (CIDR, P4:0.62g) durante nueve días, y tres días antes del retiro, se les asignó aleatoriamente a uno de cuatro tratamientos: T1: CIDR durante nueve días + gonadotropina coriónica equina (eCG) 300 unidades internacionales (U.I.) tres días antes de retirar el CIDR; T2: CIDR durante nueve días + L-arginina en el alimento 500 mg kg<sup>-1</sup> de peso vivo + eCG 300 U.I. tres días previos al retiro del CIDR; T3: CIDR durante nueve días + L-arginina en el alimento 500 mg kg<sup>-1</sup> de peso vivo, tres días antes de retirar el CIDR; y T4: CIDR durante nueve días (Cuadro 4). Con la finalidad de que todas las ovejas se encontraran en un estado reproductivo similar y lissar algún cuerpo lúteo presente, se les administró prostaglandina F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ , D-Cloprostenol; Intervet Holland) 5 mg, tres días antes de retirar los CIDR (Figura 5), para promover una subsecuente elevación en los

niveles de E<sub>2</sub> y LH, favorecer el desarrollo folicular y obtener la manifestación externa de estro, la presencia de un pico de LH acompañado de la ovulación (McNeilly *et al.*, 1992), por lo cual el tratamiento 1 fue considerado como testigo, por su buena respuesta reproductiva.

Cuadro 4. Descripción de los tratamientos asignados para ambas razas de ovejas.

Tratamiento	Ovejas de pelo (n)	Ovejas de lana (n)	Composición
T1	17	12	CIDR + eCG
T2	17	12	CIDR + L-arginina + eCG
T3	21	13	CIDR + L-arginina
T4	17	12	CIDR

T: Tratamiento, n: Número de ovejas.

T1: Dispositivo intravaginal (CIDR; P<sub>4</sub>: 0.62 g) durante nueve días + Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) 300 unidades internacionales (U.I.) a los tres días previos al retiro del CIDR.

T2: CIDR durante nueve días + L-arginina adicionada al alimento 500 mg kg<sup>-1</sup> de peso vivo durante tres días hasta el retiro del CIDR + eCG 300 U.I. a los tres días previos al retiro del CIDR.

T3: CIDR durante nueve días + L-arginina adicionada al alimento 500 mg kg<sup>-1</sup> de peso vivo durante tres días hasta el retiro del CIDR.

T4: CIDR durante nueve días.

#### 4.4. Adición de L-arginina en la ración alimenticia

Todas las ovejas pastaron diariamente (08:00-15:00 h) en praderas de *Medicago sativa* y pasto, al regreso a sus corrales se les ofreció una ración de concentrado comercial (15% de proteína cruda) 0.500 kg oveja<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> y forraje de *Avena sativa* con sales minerales a libre acceso, para cubrir los requerimientos nutricionales de acuerdo al estado fisiológico que presentaban. Las ovejas de ambas razas con los tratamientos 2 y 3, recibieron la misma ración alimenticia mezclada con la cantidad del aminoácido, durante tres días previos al retiro de los CIDR (Cuadro 4, Figura 5).

La dosis de L-arginina utilizada en el presente estudio fue similar a la reportada por Hamra *et al.* (2003), cantidad mayor que el contenido de arginina en el grano de *Lupinus spp.* (300 mg kg<sup>-1</sup> de peso vivo oveja<sup>-1</sup>, Bulbarela-García *et al.*, 2009).

Cuadro 5. Ración alimenticia ofrecida a las ovejas durante los últimos tres días de la sincronización.

Tratamiento	Raza	n	L-arginina ( $\text{g}^{-1} \text{d}^{-1}$ )	Concentrado comercial ( $\text{g}^{-1} \text{d}^{-1}$ )
T2	Ovejas	17	151.25	8500
	de pelo	21	176.375	5250
T3	Ovejas	12	288.95	6000
	de lana	13	298.00	6500

n: Número de ovejas

T2: CIDR durante nueve días + L-arginina adicionada al alimento  $500 \text{ mg kg}^{-1}$  de peso vivo durante tres días hasta el retiro del CIDR + eCG 300 U.I. a los tres días previos al retiro del CIDR.

T3: CIDR durante nueve días + L-arginina adicionada al alimento  $500 \text{ mg kg}^{-1}$  de peso vivo durante tres días hasta el retiro del CIDR.

#### 4.5. Detección de estros

Se detectó estro inmediatamente después del retiro de los CIDR, utilizando sementales celadores provistos con un mandil para evitar la cópula y realizar la detección de estros, durante 60 minutos por la mañana (07:00-8:00) y 60 minutos por la tarde (19:00-20:00). Todas las ovejas que manifestaron estro fueron inseminadas por monta natural, inmediatamente que el semental las detectó en estro, registrándose el tiempo al primer servicio y 12 h después, se les proporcionó un segundo servicio (Figura 5). Se registró el número de ovejas con manifestaciones externas de estro, después del retiro de los CIDR.

#### 4.6. Tasa ovulatoria

Para determinar la tasa ovulatoria, se utilizó un transductor de 7.0 MHz integrado a un equipo de ultrasonografía de tiempo real Sonovet 600 (Medison, Universal Medical Systems Inc.) con lo que se cuantificó el número de cuerpos lúteos presentes en ambos ovarios de las ovejas, a los 11 días postinseminación. Se determinó la presencia de cuerpos lúteos y por lo tanto la ovulación (Figura 5).

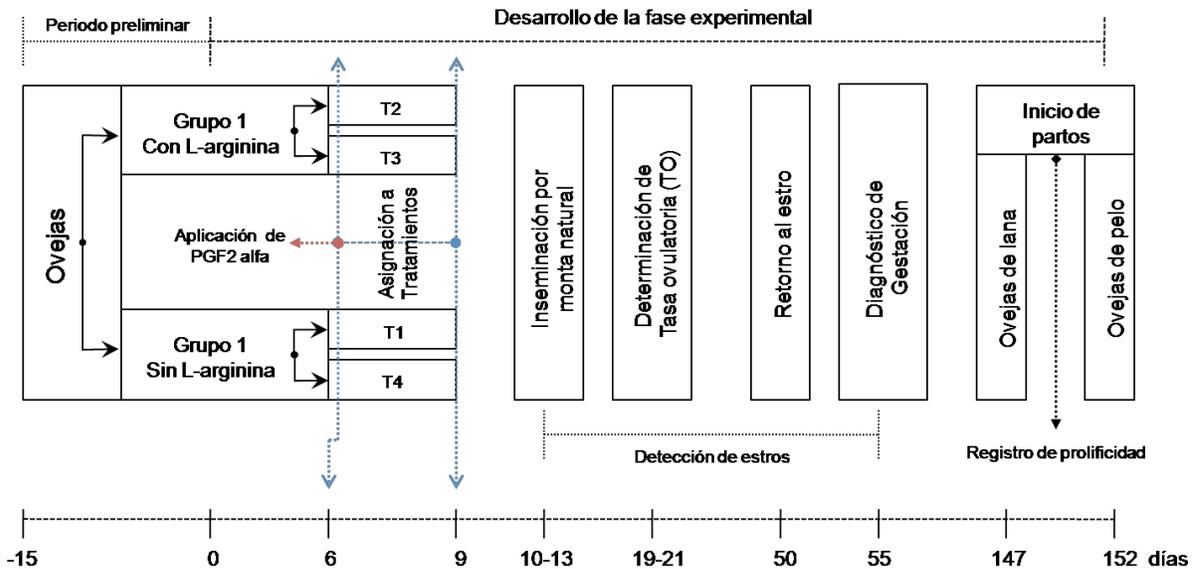


Figura 5. Protocolo del manejo reproductivo-nutricional realizado durante el experimento en ovejas.

#### 4.7. Retorno al estro

Para determinar la tasa de retorno al estro, se introdujeron sementales celadores provistos con un mandil, durante 60 minutos por la mañana (07:00-08:00) y 60 minutos por la tarde (19:00-20:00) a los corrales con aquellas ovejas tratadas que nuevamente manifestaron signos externos de estro, a los subsecuentes 17 días.

#### 4.8. Diagnóstico de gestación

El diagnóstico de gestación de las ovejas, se realizó a los 45 días posterior a la inseminación por monta natural, registrando positivo (+) o negativo (-) para aquella oveja con o sin un producto (s) fetal (es) bien definido (s). Se utilizó el mismo equipo de ultrasonografía usado para el conteo de cuerpos lúteos totales (CLT).

#### 4.9. Prolificidad

Se determinó la prolificidad en el momento en que la oveja paría. Se contó el número de corderos nacidos por cada oveja parida. Los corderos se identificaron con placas metálicas, asignándoles un número seriado y la identificación de su madre. Se registró la fecha de parto, el peso al nacimiento y el sexo de la cría. Los corderos se asignaron junto con sus madres en un corral para ovejas paridas.

#### 4.10. Variables de estudio

Las variables evaluadas que estudian los efectos de los tratamientos fueron:

4.10.1 Manifestaciones externas de estros (MEE): Número de ovejas que manifestaron signos externos de estro, detectadas por el semental celador, con respecto al número total de ovejas dentro de cada tratamiento, después de retirar el dispositivo intravaginal (%).

4.10.2. Inicio del estro: Tiempo (h) transcurrido desde el momento en que se retiraron los CIDR hasta el inicio de las MEE, con intervalos de 12 h para la detección de estros.

4.10.3. Retorno al estro: Número de ovejas tratadas que manifestaron nuevamente signos externos de estro, al siguiente ciclo estral (17 días subsecuentes promedio).

4.10.4. Tasa ovulatoria: Número de cuerpos lúteos totales presentes en la superficie de los ovarios de las ovejas experimentales que no retornaron al estro, con respecto al número de ovejas diagnosticadas por ultrasonografía.

4.10.5. Porcentaje de gestación: Número de ovejas gestantes, con respecto al número total de ovejas inseminadas.

4.10.6. Porcentaje de parición: Número de ovejas gestantes con respecto al número total de ovejas paridas.

4.10.7. Prolificidad: Número total de corderos nacidos con respecto al número total de ovejas paridas dentro de cada tratamiento.

#### 4.11. Análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con cuatro tratamientos. Las variables: porcentaje de manifestaciones externas de estro, retorno a estro,

porcentaje de parición y gestación, fueron analizadas por medio de una prueba de Ji-cuadrada. Las variables inicio de estro, tasa ovulatoria y prolificidad, fueron analizadas por medio de un análisis de varianza, el cual se realizó mediante el procedimiento GLM (SAS, 2002) y la comparación de medias entre tratamientos se realizó por la prueba de Tukey (Steel y Torrie, 1991). El modelo estadístico utilizado para el diseño experimental completamente al azar, fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \xi_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$  = Es el valor de la variable respuesta correspondiente al  $i$ -ésimo tratamiento en la  $j$ -ésima repetición.

$\mu$  = Media general.

$\tau_i$  = Efecto del  $i$ -ésimo tratamiento ( $i = 1, 2, 3$ ).

$\xi_{ij}$  = Error aleatorio de la  $j$ -ésima repetición ( $j = 1, 2, 3 \dots, 10$ ) del  $i$ -ésimo tratamiento.

## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1. Manifestaciones externas de estros (MEE, %)

No se observaron diferencias ( $P>0.05$ ) en el porcentaje de MEE en ovejas de pelo (Cuadro 6.)

Cuadro 6. Manifestaciones externas de estro de ovejas de pelo.

	T1(n=17)	T2(n=17)	T3(n=21)	T4(n=17)
En estro (n)	17	17	21	17
%	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>: Porcentaje con misma literal en columna es similar ( $P>0.05$ ).

T= Tratamiento, n= Número de ovejas.

T1: Dispositivo intravaginal (CIDR; P<sub>4</sub>: 0.62 g) durante nueve días + Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) 300 unidades internacionales (U.I.) a los tres días previos al retiro del CIDR.

T2: CIDR durante nueve días + L-arginina adicionada al alimento 500 mg kg<sup>-1</sup> de peso vivo durante tres días hasta el retiro del CIDR + eCG 300 U.I. a los tres días previos al retiro del CIDR.

T3: CIDR durante nueve días + L-arginina adicionada al alimento 500 mg kg<sup>-1</sup> de peso vivo durante tres días hasta el retiro del CIDR.

T4: CIDR durante nueve días.

La eficiencia de la mayoría de los sistemas de producción ovinos puede mejorarse mediante tratamientos nutricionales y hormonales, resultando mayor respuesta al estro y por consiguiente, mayor tasa de concepción (Kridli *et al.*, 2003). El plano nutricional es importante durante la sincronización de estros, además de las posibles interacciones fisiológicas, metabólicas y ambientales. La sincronización de estros, es una herramienta valiosa que ha sido empleada exitosamente para mejorar la eficiencia reproductiva, particularmente en rumiantes (Kusina *et al.*, 2000). El porcentaje de MEE para ovejas de pelo en esta investigación, coinciden con los obtenidos por Avendaño-Reyes *et al.* (2007) quienes reportaron 100% de MEE en ovejas de pelo, al sincronizar el estro con 40 mg de FGA durante 12 días y 500 U.I. de eCG dos días antes del retiro de la esponja. Sin embargo, Bulbarela-García *et al.* (2009) reportaron 100% de estros en ovejas *Pelibuey* adultas tratadas con FGA por 12 días, incluyendo 300 mg de L-arginina en el alimento, a los tres días antes del retiro de esponjas; y 87.5% de estros, al utilizar FGA por 12 días, incluyendo 300 mg de L-arginina más 6% de aceite de pescado en el alimento, a los tres días previos al

retiro de esponjas. Posiblemente, la adición de L-arginina en la ración de las ovejas de pelo, durante tres días previos al retiro de los CIDR, produce un efecto similar a la eCG en la sincronización de estros durante la época reproductiva, ya que L-arginina es indispensable para la producción de óxido nítrico, el cual pudo haber estimulado la producción de gonadotropinas y modulado la actividad reproductiva (Faletti *et al.*, 1999a). No obstante, esto puede ser una motivación para realizar este tipo de estudios en época de anestro.

No se encontraron diferencias en el porcentaje de MEE de ovejas de lana ( $P > 0.05$ ). Sin embargo, las ovejas del tratamiento 2 presentaron el menor porcentaje de MEE con respecto a las de los demás tratamientos, tal y como se observa en el Cuadro 7.

Cuadro 7. Manifestaciones externas de estro de ovejas de lana.

	T <sub>1</sub> (n=12)	T <sub>2</sub> (n=12)	T <sub>3</sub> (n=13)	T <sub>4</sub> (n=12)
En estro (n)	12	9	12	11
%	100 <sup>a</sup>	75.00 <sup>a</sup>	92.31 <sup>a</sup>	91.67 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>: Porcentaje con misma literal en columna es similar ( $P > 0.05$ ).

T= Tratamiento, n= Número de ovejas.

T1: Dispositivo intravaginal (CIDR; P<sub>4</sub>: 0.62 g) durante nueve días + Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) 300 unidades internacionales (U.I.) a los tres días previos al retiro del CIDR.

T2: CIDR durante nueve días + L-arginina adicionada al alimento 500 mg kg<sup>-1</sup> de peso vivo durante tres días hasta el retiro del CIDR + eCG 300 U.I. a los tres días previos al retiro del CIDR.

T3: CIDR durante nueve días + L-arginina adicionada al alimento 500 mg kg<sup>-1</sup> de peso vivo durante tres días hasta el retiro del CIDR.

T4: CIDR durante nueve días.

Los resultados señalan que el bajo porcentaje de MEE de las ovejas de lana del tratamiento 2, con respecto a los otros, posiblemente se debió al efecto de la combinación de eCG con la adición de L-arginina en el alimento, e influyó en la respuesta al estro, o bien la cantidad de E<sub>2</sub> liberada, no fue suficiente para que las ovejas manifestaran estro. La administración de P<sub>4</sub> es necesaria para la expresión del estro, porque incrementa la sensibilidad de los estrógenos (Fabre-Nys y Martin, 1991) y maximiza el efecto de los mismos para iniciar el pico preovulatorio de GnRH (Caraty y Skinner, 1999).

El uso de progestágenos y eCG, ofrecen buenos resultados en fertilidad, determinado por la respuesta al tratamiento hormonal, tomando en cuenta la incidencia y el inicio del estro, así como las ovulaciones posteriores al retiro del progestágeno (López-Sebastián, 1991) siendo básicamente, las hembras con estros retrasados, las que determinen los posibles descensos de fertilidad (Leboeuf *et al.*, 1998). Por otro lado, en época no reproductiva, es común el uso de tratamientos con CIDR o P<sub>4</sub> natural en combinación con gonadotropinas o análogos de prostaglandinas y realizando estrategias de alimentación para obtener resultados óptimos de inducción del estro, similares a los de época reproductiva, tal y como lo indican Emsem y Yaprak (2006) quienes indujeron el estro en ovejas *Awassi* y *Red Karaman* con 40 mg de FGA durante 14 días, más 500 U. I. de eCG al retirar la esponja, y ofrecieron *flushing* (30 días antes del empadre), encontrando 96.7% de MEE en ovejas *Awassi* y 100% de MEE en ovejas *Red Karaman*, siendo mayores al tratamiento testigo (50% y 85%, respectivamente). Hashemi *et al.* (2006) reportaron 80, 93.3 y 100% de MEE en ovejas *Karakul*, tratadas con diferentes fármacos (P<sub>4</sub> + eCG, CIDR + eCG, y MAP + eCG) para inducir el estro, respectivamente. Por el contrario, Husein y Ababneh (2008) obtuvieron 100% de MEE al inducir el estro en ovejas *Awassi*, con MAP y CIDR-G por 12 días y ofrecer tabletas de MAP (10 mg) y P<sub>4</sub> (25 mg i. m.) oveja<sup>-1</sup>, respectivamente. Hamra *et al.* (1989) reportaron 92% de MEE en ovejas *Awassi*, al utilizar CIDR por 12 días más 750 U. I. de eCG al retiro del CIDR. Por otro lado, Knights *et al.* (2001) mediante dispositivos intravaginales de policaprolactona (PCL, 0.82 g de P<sub>4</sub>) durante cinco días y con efecto macho, encontraron 77% de MEE; sin embargo, al combinarlos con FSH (Follltropin, 55 mg NIH-FSH-P1) 24 h después de remover los PCL, reportaron 79% de MEE.

## 5.2. Inicio del estro

El inicio de estro de las ovejas de pelo fue diferente entre tratamientos ( $P < 0.05$ ). Las ovejas del tratamiento 1, iniciaron el estro en menor tiempo ( $22.58 \pm 3.37$  h) siendo diferente al de las ovejas de los tratamientos 3 y 4. Las ovejas del tratamiento 4, iniciaron el estro en mayor tiempo ( $45.88 \pm 3.37$  h) mientras que el de las ovejas del

tratamiento 2, no fue diferente al de los otros tratamientos ( $P>0.05$ ) tal y como se observa en el Cuadro 8.

Cuadro 8. Inicio de estro en ovejas de pelo según tratamientos.

Estro	T1 (n=17)	T2 (n=17)	T3 (n=21)	T4 (n=17)
Me (h)	22.6 <sup>b</sup>	33.9 <sup>ab</sup>	37.7 <sup>a</sup>	45.9 <sup>a</sup>
± E. E.	3.4	3.4	3.0	3.4

<sup>a,b</sup>: Medias con diferente literal en columnas son diferentes ( $P<0.05$ ).

T: Tratamiento, n: Número de ovejas. Me ± E.E.: Media ± error estándar.

T1: Dispositivo intravaginal (CIDR; P<sub>4</sub>: 0.62 g) durante nueve días + Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) 300 unidades internacionales (U.I.) a los tres días previos al retiro del CIDR.

T2: CIDR durante nueve días + L-arginina adicionada al alimento 500 mg kg<sup>-1</sup> de peso vivo durante tres días hasta el retiro del CIDR + eCG 300 U.I. a los tres días previos al retiro del CIDR.

T3: CIDR durante nueve días + L-arginina adicionada al alimento 500 mg kg<sup>-1</sup> de peso vivo durante tres días hasta el retiro del CIDR.

T4: CIDR durante nueve días.

El efecto del tratamiento 1, influyó en las ovejas de pelo presentando el inicio del estro temprano con respecto a las demás. Probablemente, la eCG favoreció la estimulación del desarrollo folicular, el incremento de los niveles de E<sub>2</sub> y LH y por consiguiente, la MEE en poco tiempo (McNeilly *et al.*, 1992). El inicio del estro de ovejas de pelo en este estudio, difiere con lo reportado por Eppleston *et al.* (1991) puesto que no encontraron diferencias ( $P>0.05$ ) en la administración de eCG, 24 h después del retiro de la esponja, aunque el estro inició relativamente más rápido, después del retiro de la esponja. En ovejas Awassi, Kridli *et al.* (2003) utilizaron 40 mg de FGA por 12 días más 250 mg de jalea real día<sup>-1</sup> oveja<sup>-1</sup>, al insertar la esponja, y a cinco ovejas por tratamiento, les administraron 50 µg de GnRH, 28 h después de remover la esponja; el tiempo de respuesta fue 45±4.1 y 55±6.7 h para el grupo de jalea real y testigo, respectivamente; y 42±4.1 y 58±5.2 h, para el grupo GnRH y testigo, respectivamente. Por otro lado, al sincronizar el estro en ovejas Pelibuey, con FGA por 12 días, Bulbarela-García *et al.* (2009) reportaron que los tiempos de respuesta a los tratamientos con 300 mg de L-arginina con o sin 6% de aceite de pescado, durante tres días antes de introducir al carnero, fueron iguales ( $P>0.05$ ; 59.7±4.8; 61.2±4.3 y 55.7±6.7) y diferentes ( $P<0.05$ ) con progestágeno (87.0±11.0) o eCG (400 U.I., 31.8±2.9).

Lo anterior, difiere con Rodríguez-Mejía *et al.* (2007) quienes encontraron menor tiempo de respuesta al estro ( $35.6 \pm 7.1$  h,  $P < 0.05$ ) en ovejas *Pelibuey* alimentadas con maíz molido, con respecto a las ovejas alimentadas con concentrado comercial ( $50.6 \pm 8.1$  h), y con las del grupo testigo ( $65.8 \pm 8.1$  h,  $P < 0.05$ ). El uso de  $P_4$  y progestágenos simulan la presencia de un cuerpo lúteo funcional, inhiben la secreción de GnRH, las gonadotropinas y las manifestaciones de estros, hasta que se suspende el progestágeno. Asimismo, inhiben el crecimiento folicular y la ovulación, eventos que ocurren si se destruye el cuerpo lúteo.

La frecuencia del estro para las ovejas de pelo se resume en el Cuadro 9. Todas las ovejas presentaron estro. El 82.35% de las ovejas del tratamiento 1, manifestaron estro entre las 12-24 h y 17.64% entre las 36-48 h. Las ovejas del tratamiento 2, 52.94% exhibieron estro a las 24 h, 41.17% entre las 36-48 h y 5.88% a las 60 h. El 57.14% de ovejas del tratamiento 3, presentaron estro a las 24 h, 19.04% a las 36-48 h y 23.80% entre las 60-72 h. Finalmente, el 5.88% de las ovejas del tratamiento 4, presentaron estro a las 24 h, 76.47% entre las 36-48 h y 17.64% a las 60 h.

Cuadro 9. Distribución del inicio del estro en ovejas de pelo según tratamientos.

Horas al estro posterior al retiro de CIDR	T1 (n= 17)	T2 (n= 17)	T3 (n= 21)	T4 (n= 17)
12	8	0	0	0
24	6	9	12	1
36	0	3	1	4
48	3	4	3	9
60	0	1	3	3
72	0	0	2	0

T: Tratamiento, n: Número de ovejas.

T1: Dispositivo intravaginal (CIDR;  $P_4$ : 0.62 g) durante nueve días + Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) 300 unidades internacionales (U.I.) a los tres días previos al retiro del CIDR.

T2: CIDR durante nueve días + L-arginina adicionada al alimento  $500 \text{ mg kg}^{-1}$  de peso vivo durante tres días hasta el retiro del CIDR + eCG 300 U.I. a los tres días previos al retiro del CIDR.

T3: CIDR durante nueve días + L-arginina adicionada al alimento  $500 \text{ mg kg}^{-1}$  de peso vivo durante tres días hasta el retiro del CIDR.

T4: CIDR durante nueve días.

El inicio de estro de las ovejas de lana fue diferente ( $P < 0.05$ ) entre tratamientos. Las ovejas de los tratamientos 2 y 3, presentaron el menor tiempo al inicio de estro (Cuadro 10).

Cuadro 10. Inicio del estro en ovejas de lana según tratamientos.

	T1 (n=12)	T2 (n=12)	T3 (n=13)	T4 (n=12)
En estro (n)	11	8	12	10
Me (h)	40.00 <sup>b</sup>	37.33 <sup>b</sup>	48.00 <sup>ab</sup>	58.90 <sup>a</sup>
± E. E.	3.39	3.92	3.39	3.54

<sup>a,b</sup>: Medias con diferente literal en columnas son diferentes ( $P < 0.05$ ).

T: Tratamiento, n: Número de ovejas. Me ± E.E.: Media ± error estándar.

T1: Dispositivo intravaginal (CIDR; P<sub>4</sub>: 0.62 g) durante nueve días + Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) 300 unidades internacionales (U.I.) a los tres días previos al retiro del CIDR.

T2: CIDR durante nueve días + L-arginina adicionada al alimento 500 mg kg<sup>-1</sup> de peso vivo durante tres días hasta el retiro del CIDR + eCG 300 U.I. a los tres días previos al retiro del CIDR.

T3: CIDR durante nueve días + L-arginina adicionada al alimento 500 mg kg<sup>-1</sup> de peso vivo durante tres días hasta el retiro del CIDR.

T4: CIDR durante nueve días.

El inicio del estro en las ovejas de lana de los tratamientos 2 y 3, posiblemente se debió al efecto de L-arginina en el alimento, que estimuló al eje hipotálamo-hipófisis-ovarios, a través del óxido nítrico, para la producción de gonadotropinas.

El inicio del estro de ovejas de lana del presente estudio, difiere con lo reportado por Rodríguez-Iglesias *et al.* (1996) quienes utilizaron diferentes dosis glucogénicas (70% glicerol, 20% propilen glicol, y 10% agua destilada) para sincronizar estros en ovejas *Corriedale*, con dos niveles de MAP y hallaron el inicio de estro (54.8±1.44 h) con 60 mg y 43.6±1.08 h con 10 mg de MAP. En cambio, Das *et al.* (2000) evaluaron dos dosis de P<sub>4</sub> (300 y 350 mg) en ovejas *Bharat Merino*, y observaron que el estro inició a las 47.6±6.64 h en ovejas sincronizadas con 350 mg por 12 días. Incrementado la dosis de MAP (40, 50 y 60 mg) el inicio del estro fue a las 55.94±1.87 h, pero las ovejas respondieron mejor con la dosis mínima (Simonetti *et al.*, 2000). Menegatos *et al.* (2003) reportaron que en ovejas *Chios*, el estro inició a las 45.3±2.7 h con 60 mg de MAP por 14 días más 500 U.I. de eCG al retiro de la esponja, y a las 21.5±1.2 h con implantes subcutáneos de P<sub>4</sub> por 14 días más 500

U.I. de eCG, al retiro del implante. En ovejas *Karakul*, usando P<sub>4</sub> más eCG, CIDR más eCG o MAP más eCG, se encontró que el inicio de estro fue 51.4±10, 30.1±7.6 y 29.6±5.6 h, respectivamente (Hashemi *et al.*, 2006). Por otro lado, la frecuencia del estro para las ovejas de lana se muestra en el Cuadro 11.

Cuadro 11. Distribución del inicio del estro en ovejas de lana según tratamientos.

Horas al estro posterior al retiro de CIDR	T1 (n= 12)	T2 (n= 12)	T3 (n= 13)	T4 (n= 12)
24	4	5	0	0
48	8	3	12	6
72	0	1	0	5

T: Tratamiento, n: Número de ovejas.

T1: Dispositivo intravaginal (CIDR; P<sub>4</sub>: 0.62 g) durante nueve días + Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) 300 unidades internacionales (U.I.) a los tres días previos al retiro del CIDR.

T2: CIDR durante nueve días + L-arginina adicionada al alimento 500 mg kg<sup>-1</sup> de peso vivo durante tres días hasta el retiro del CIDR + eCG 300 U.I. a los tres días previos al retiro del CIDR.

T3: CIDR durante nueve días + L-arginina adicionada al alimento 500 mg kg<sup>-1</sup> de peso vivo durante tres días hasta el retiro del CIDR.

T4: CIDR durante nueve días.

Con el tratamiento 1, 33.33% de las ovejas presentaron estro a las 24 h y 66.66% a las 36 h. Para las ovejas del tratamiento 2, 41.66% exhibieron estro entre las 24 h, 33.33% manifestaron signos de estro a las 48-72 h y 8.33% restante, no mostró signos estrales. El 92.30% de ovejas del tratamiento 3, presentaron estro a las 48 h y 7.69% no tuvo MEE. Finalmente, 50% de las ovejas del tratamiento 4, presentaron estro a las 48 h, 41.66% a las 72 h y 8.33% restante, no presentaron estro.

### 5.3. Retorno al estro

La tasa de retorno al estro no fue diferente ( $P>0.05$ ) para las ovejas de pelo, entre tratamientos. Las ovejas del tratamiento 1, fueron las que presentaron la mayor tasa de retorno al estro comparada con la de las ovejas del tratamiento 4 (Cuadro 12).

El porcentaje de ovejas de pelo del tratamiento 1 que retornaron al estro, fue mayor al de los demás tratamientos. Valor inferior al publicado por Romero (2000) quien

registró 36.36%, sincronizando ovejas *Pelibuey* con esponjas de 40 mg de FGA y 500 U. I. de eCG, dos días previos al retiro de la esponja. Por otro lado, Hernández (2003) obtuvo una tasa de retorno de 60 y 30% en ovejas *Pelibuey*, al aplicar líquido folicular equino (LFE) al inicio y al sexto día de sincronización, respectivamente.

Cuadro 12. Tasa de retorno al estro en ovejas de pelo según tratamientos.

	T1 (n=17)	T2 (n=17)	T2 (n=21)	T4 (n=17)
Al retorno (n)	5	3	2	1
%	29.41 <sup>a</sup>	17.65 <sup>a</sup>	9.52 <sup>a</sup>	5.88 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>=Porcentajes con misma literal en columnas son iguales (P> 0.05).

T1: Dispositivo intravaginal (CIDR; P<sub>4</sub>: 0.62 g) durante nueve días + Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) 300 unidades internacionales (U.I.) a los tres días previos al retiro del CIDR.

T2: CIDR durante nueve días + L-arginina adicionada al alimento 500 mg kg<sup>-1</sup> de peso vivo durante tres días hasta el retiro del CIDR + eCG 300 U.I. a los tres días previos al retiro del CIDR.

T3: CIDR durante nueve días + L-arginina adicionada al alimento 500 mg kg<sup>-1</sup> de peso vivo durante tres días hasta el retiro del CIDR.

T4: CIDR durante nueve días.

La tasa de retorno al estro fue similar (P>0.05) para las ovejas de lana, entre tratamientos (Cuadro 13). Las ovejas del tratamiento 2 fueron las que presentaron la mayor tasa de retorno al estro, comparada con la de las del tratamiento 1.

Cuadro 13. Tasa de retorno al estro en ovejas de lana según tratamientos.

	T1 (n=12)	T2 (n=12)	T3 (n=13)	T4 (n=12)
Al retorno (n)	2	6	5	4
%	16.67 <sup>a</sup>	50.00 <sup>a</sup>	38.46 <sup>a</sup>	33.33 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>=Porcentajes con misma literal en columnas son iguales (P> 0.05).

T1: Dispositivo intravaginal (CIDR; P<sub>4</sub>: 0.62 g) durante nueve días + Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) 300 unidades internacionales (U.I.) a los tres días previos al retiro del CIDR.

T2: CIDR durante nueve días + L-arginina adicionada al alimento 500 mg kg<sup>-1</sup> de peso vivo durante tres días hasta el retiro del CIDR + eCG 300 U.I. a los tres días previos al retiro del CIDR.

T3: CIDR durante nueve días + L-arginina adicionada al alimento 500 mg kg<sup>-1</sup> de peso vivo durante tres días hasta el retiro del CIDR.

T4: CIDR durante nueve días.

La alta tasa de retorno, posiblemente fue causada por una reabsorción embrionaria temprana, la cual pudo deberse a una falla endócrina durante el establecimiento del embrión, o probablemente la cantidad de P<sub>4</sub> no fue la suficiente para mantener al embrión, como lo señalaron Bari *et al.* (2003). Además, el tiempo de ovulación al inicio del estro en la oveja es variable, y la combinación de progestágenos con eCG, ha sido usada para reducir esta variación (Zelege *et al.*, 2005). Por otro lado, la fertilidad está determinada por la respuesta al tratamiento hormonal, la presentación de estros y las ovulaciones después de retirar el progestágeno (Lopez-Sebastián, 1991). La tasa de retorno al estro de las ovejas de lana de los tratamientos 1 y 2, son diferentes a los publicados por Luther *et al.* (2007) quienes evaluaron los efectos de GnRH, eCG y tipo de progestágeno (implante vs CIDR o esponja intravaginal impregnada con FGA), y obtuvieron con eCG, 30.0% de tasa de retorno al estro, con GnRH 48.5%, con esponja y eCG 33.3% y con CIDR y eCG 20.0%, respectivamente. De acuerdo con Iglesias *et al.* (1997) una dosis de 60 mg de MAP, es suficiente para inducir el estro en ovejas *Corriedale* en época no reproductiva, pero al aplicar 30 mg de MAP por siete días posterior al estro, se reduce la tasa de retorno al estro de 27 a 16%. Sin embargo, en ovejas *Clun Forest*, Beck *et al.* (1993) no encontraron diferencias ( $P>0.05$ ) en la tasa de retorno al estro (14.2 a 17.4%) después de aplicar dos dosis de 125 µg de cloprostenol al retiro de la esponja de MAP por 5 días.

#### 5.4. Tasa ovulatoria

No se encontraron diferencias ( $P>0.05$ ) en la cantidad de cuerpos lúteos totales (CLT) de los ovarios en las ovejas de pelo. La cantidad y la media de mínimos cuadrados para CLT por tratamiento, se resume en el Cuadro 14.

La tasa ovulatoria de las ovejas de pelo obtenida en este estudio, es similar a los resultados reportados por Herrera-Camacho *et al.* (2008) quienes sincronizaron ovejas *Pelibuey* con PGF<sub>2α</sub> y adicionaron 4% de aceite de maíz en la dieta, con lo que obtuvieron una tasa ovulatoria de 1.13±0.14 y 0.83±0.10, respectivamente. Asimismo, Bulbarela-García *et al.* (2009) obtuvieron mayor tasa ovulatoria en ovejas de pelo (1.64±0.50) al adicionar en la dieta, 300 mg de L-arginina con 6% de aceite

de pescado, tres días antes del empadre, pero diferente a Contreras-Solís *et al.* (2007) quienes reportaron 87.5% de ovarios con al menos un CL, y 12.5% con dos CL. Diferente a De Santiago-Miramontes *et al.* (2007) quienes ofrecieron una alimentación siete días pre-empadre (alfalfa 950 g, maíz roado 290 g y soya 140 g animal<sup>-1</sup>) y detectaron que la tasa ovulatoria con cinco días de introducción del macho, fue mayor ( $P < 0.05$ ) en cabras que recibieron dicha alimentación ( $1.6 \pm 0.2$ , CLT) comparada con aquellas que no ( $1.0 \pm 0.2$ , CLT).

Cuadro 14. Tasa ovulatoria diagnosticada por ultrasonografía en ovejas de pelo según tratamientos.

CLT	T1 (n=17)	T2 (n=17)	T3 (n=21)	T4 (n=17)
Cero	1	0	2	3
Uno	10	12	14	13
Dos	6	5	5	1
Me ± E. E.	$1.29 \pm 0.12^a$	$1.29 \pm 0.12^a$	$1.14 \pm 0.11^a$	$0.88 \pm 0.12^a$
Media general	1.15			

<sup>a</sup>=Porcentajes con misma literal en columnas son iguales ( $P > 0.05$ ).

CLT= Cuerpos lúteos totales, T= Tratamiento, n= Número de ovejas. Me ± EE= Media ± error estándar.

T1: Dispositivo intravaginal (CIDR; P<sub>4</sub>: 0.62 g) durante nueve días + Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) 300 unidades internacionales (U.I.) a los tres días previos al retiro del CIDR.

T2: CIDR durante nueve días + L-arginina adicionada al alimento  $500 \text{ mg kg}^{-1}$  de peso vivo durante tres días hasta el retiro del CIDR + eCG 300 U.I. a los tres días previos al retiro del CIDR.

T3: CIDR durante nueve días + L-arginina adicionada al alimento  $500 \text{ mg kg}^{-1}$  de peso vivo durante tres días hasta el retiro del CIDR.

T4: CIDR durante nueve días.

La respuesta al tratamiento en la cantidad de CLT para las ovejas de lana, no fue diferente ( $P > 0.05$ ). La cantidad de CLT (Me ± E.E.) y de hembras que presentaron CL, se observan en el Cuadro 15.

Las ovejas con mayor cantidad de CLT ( $1.30 \pm 0.12$ ) fueron las del tratamiento 3, no así para las ovejas del tratamiento 1, quienes registraron una menor cantidad de CLT ( $0.91 \pm 0.13$ ) con respecto a los demás tratamientos. La media general fue de 1.16 CLT.

Cuadro 15. Tasa ovulatoria diagnosticada por ultrasonografía en ovejas de lana según tratamientos.

CLT	T1 (n=12)	T2 (n=12)	T3 (n=13)	T4 (n=12)
Cero	2	0	0	0
Uno	9	10	9	9
Dos	1	2	4	3
CLT± E. E. (Me)	0.91±0.13 <sup>a</sup>	1.16±0.13 <sup>a</sup>	1.30±0.12 <sup>a</sup>	1.25±0.13 <sup>a</sup>
Media general	1.16			

<sup>a</sup>: Porcentajes con misma literal en columnas son iguales ( $P > 0.05$ ).

CLT: Cuerpos lúteos totales, T: Tratamiento, n: Número de ovejas. Me ± E.E.: Media ± error estándar.

T1: Dispositivo intravaginal (CIDR; P<sub>4</sub>: 0.62 g) durante nueve días + Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) 300 unidades internacionales (U.I.) a los tres días previos al retiro del CIDR.

T2: CIDR durante nueve días + L-arginina adicionada al alimento 500 mg kg<sup>-1</sup> de peso vivo durante tres días hasta el retiro del CIDR + eCG 300 U.I. a los tres días previos al retiro del CIDR.

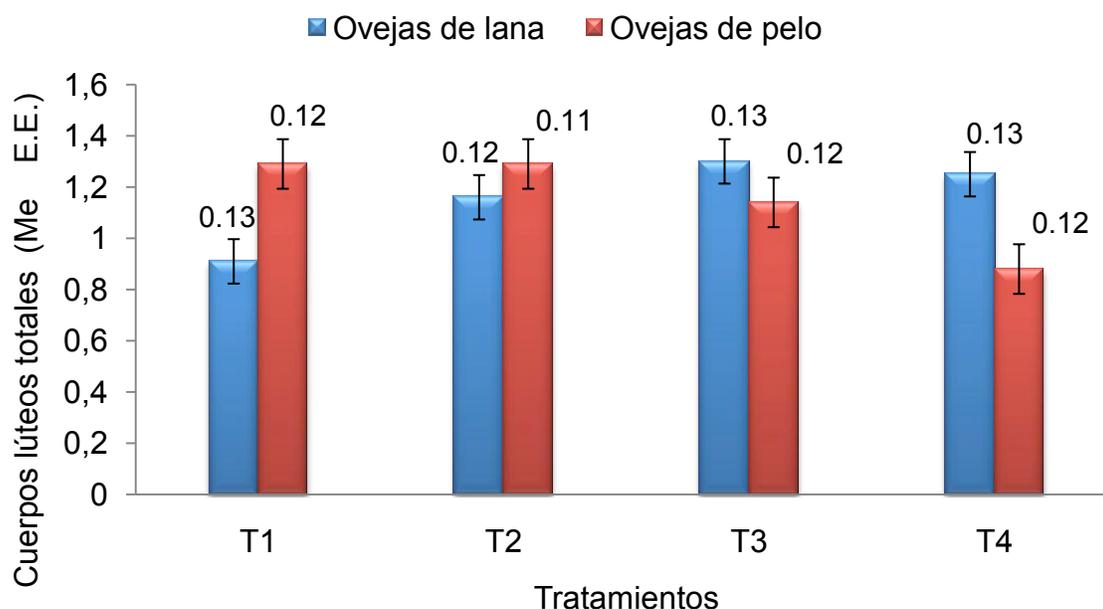
T3: CIDR durante nueve días + L-arginina adicionada al alimento 500 mg kg<sup>-1</sup> de peso vivo durante tres días hasta el retiro del CIDR.

T4: CIDR durante nueve días.

Los resultados de esta investigación difieren con los obtenidos por Pearsea *et al.* (1994) quienes alimentaron ovejas *Merino* con maíz y alfalfa achicalada, y evaluando el “*efecto lupino*”, comenzando el día 8 a 12 de la inserción de la esponja con FGA (40 mg) obtuvieron un incremento de 64% ( $P < 0.05$ ) en tasa ovulatoria, comparada con aquellas que no recibieron dicha complementación. Posteriormente, Nottle *et al.* (1997) mencionaron que un nivel nutricional bajo con la complementación de lupino, puede influenciar en la respuesta ovulatoria.

Rodríguez-Iglesias *et al.* (1996) sincronizaron ovejas con dos dosis de MAP (10 y 60 mg) y compuestos glucogénicos, con glicerol (70%) propilen glicol (20%) y agua (10%) después de introducir al carnero para inducir la ovulación, con ello determinaron en plasma, que los niveles más bajos de MAP, produjeron mayor tasa ovulatoria (1.56 vs 1.31,  $P < 0.01$ ), pero ésta disminuyó con el tratamiento de mayor dosis de MAP (1.30 vs 1.13). Vidal-Valdés (2004) no encontró diferencia ( $P > 0.05$ ) en la tasa ovulatoria de ovejas de lana (1.0, 1.1 y 1.0, CL oveja<sup>-1</sup>) sincronizadas con Norgestomet (1.5 mg) a los 7, 9 y 11 días del ciclo estral y retirándolos a los 11, 9 y 7 días del ciclo estral, respectivamente.

En la presente investigación, el efecto de los tratamientos en la respuesta para la tasa ovulatoria no fue diferente ( $P>0.05$ ) en las ovejas de ambas razas (Figura 6). Posiblemente, la cantidad de ovejas utilizadas por tratamiento, no fue suficiente para reflejar un efecto significativo. Los resultados indican que la tasa ovulatoria fue similar ( $1.29\pm 0.12$ ) en las ovejas de pelo tratadas con y sin L-arginina en la ración ofrecida al sincronizar con  $P_4$ ,  $PGF_{2\alpha}$  y eCG; y  $0.88\pm 0.12$  en aquellas tratadas solamente con  $P_4$  y  $PGF_{2\alpha}$ . No obstante, en las ovejas de lana que recibieron L-arginina al sincronizar sin eCG, se obtuvo una tasa ovulatoria de  $1.30\pm 0.12$ .



Me ± E.E.: Media ± error estándar, T: Tratamiento.

T1: Dispositivo intravaginal (CIDR;  $P_4$ : 0.62 g) durante nueve días + Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) 300 unidades internacionales (U.I.) a los tres días previos al retiro del CIDR.

T2: CIDR durante nueve días + L-arginina adicionada al alimento  $500 \text{ mg kg}^{-1}$  de peso vivo durante tres días hasta el retiro del CIDR + eCG 300 U.I. a los tres días previos al retiro del CIDR.

T3: CIDR durante nueve días + L-arginina adicionada al alimento  $500 \text{ mg kg}^{-1}$  de peso vivo durante tres días hasta el retiro del CIDR.

T4: CIDR durante nueve días.

Figura 6. Comparación de tasa ovulatoria de ovejas de pelo y de lana según tratamientos.

### 5.5. Porcentaje de gestación y parición

No se encontraron diferencias ( $P>0.05$ ) en el porcentaje de gestación y parición de las ovejas de pelo (Cuadro 16).

Cuadro 16. Tasa de gestación y parición en ovejas de pelo según tratamientos.

	T1(n=17)	T2(n=17)	T3(n=21)	T4(n=17)
Gestantes	12	14	18	16
%	70.59 <sup>a</sup>	82.35 <sup>a</sup>	85.71 <sup>a</sup>	94.12 <sup>a</sup>
Paridas	12	13	17	15
%	100 <sup>a</sup>	92.85 <sup>a</sup>	94.44 <sup>a</sup>	93.75 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> = Valores en porcentaje con misma literal en columnas son iguales ( $P > 0.05$ ).

T1: Dispositivo intravaginal (CIDR; P<sub>4</sub>: 0.62 g) durante nueve días + Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) 300 unidades internacionales (U.I.) a los tres días previos al retiro del CIDR.

T2: CIDR durante nueve días + L-arginina adicionada al alimento 500 mg kg<sup>-1</sup> de peso vivo durante tres días hasta el retiro del CIDR + eCG 300 U.I. a los tres días previos al retiro del CIDR.

T3: CIDR durante nueve días + L-arginina adicionada al alimento 500 mg kg<sup>-1</sup> de peso vivo durante tres días hasta el retiro del CIDR.

T4: CIDR durante nueve días.

Se registró 94.12% de ovejas gestantes correspondientes al tratamiento 4, mientras que con el tratamiento 1 se obtuvo 70.59% de gestación. Una oveja del tratamiento 3, murió durante la fase experimental. Con respecto a la tasa de parición, se obtuvo 100% de pariciones con el tratamiento 1, y solamente una oveja en cada uno de los otros tratamientos no parió.

Los resultados obtenidos en esta investigación, difieren con los de Bulbarela-García *et al.* (2009), quienes observaron 73.3±12.0% de gestación al utilizar aceite de pescado y eCG, comparado con gestaciones de 47.1±18.0 y 43.8±13.0%, para los tratamientos con L-arginina y L-arginina más aceite de pescado, respectivamente. Sin embargo, estos resultados fueron inferiores a los publicados por Rosado *et al.* (1998) quienes indujeron y sincronizaron el estro con P<sub>4</sub>, gonadotropinas e introducción del macho, 48-69 h después de retirar la esponja, en ovejas *Pelibuey* y sus cruza, alimentadas con *Leucaena leucocephala* y 3Mcal kg<sup>-1</sup> y 18% de PC, presentándose 53.5, 63.3, 70.3 y 74.0% de ovejas fértiles en primavera, verano, otoño e invierno, respectivamente. Se ha reportado que la complementación nutricional al momento del empadre una o dos semanas antes en ovejas de pelo, incrementa la tasa de parición en 11.6%, con 0.14% más de corderos por parto, pero

la prolificidad no es diferente con la complementación con energía (Valencia y González, 1983).

El porcentaje de gestación y parición en las ovejas de lana no fueron diferentes ( $P>0.05$ ) por efecto de los tratamientos (Cuadro 17).

Cuadro 17. Tasa de gestación y parición en ovejas de lana según tratamientos.

Ovejas de lana	T1(n=12)	T2(n=12)	T3(n=13)	T4(n=12)
Gestantes	8	4	8	6
%	66.67 <sup>a</sup>	33.33 <sup>a</sup>	61.54 <sup>a</sup>	50 <sup>a</sup>
Paridas	8	4	7	6
%	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	87.50 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> = Valores en porcentaje con misma literal en columnas son iguales ( $P> 0.05$ ).

T1: Dispositivo intravaginal (CIDR; P<sub>4</sub>: 0.62 g) durante nueve días + Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) 300 unidades internacionales (U.I.) a los tres días previos al retiro del CIDR.

T2: CIDR durante nueve días + L-arginina adicionada al alimento 500 mg kg<sup>-1</sup> de peso vivo durante tres días hasta el retiro del CIDR + eCG 300 U.I. a los tres días previos al retiro del CIDR.

T3: CIDR durante nueve días + L-arginina adicionada al alimento 500 mg kg<sup>-1</sup> de peso vivo durante tres días hasta el retiro del CIDR.

T4: CIDR durante nueve días.

Se presentó 66.67% de ovejas gestantes con el tratamiento 1, y con las ovejas del tratamiento 2, sólo se obtuvo 33.33% de gestación. Las ovejas que retornaron al estro, y las que murieron, se consideraron como no gestantes.

Los resultados obtenidos en la presente investigación en ovejas de lana, coinciden con los de otros autores. Stellflug *et al.* (2001) indujeron el estro en ovejas jóvenes, con esponjas de MAP por 12 días y eCG (400 U.I.) sin embargo, ellos observaron diferencia ( $P<0.01$ ) en la tasa de gestación registrada en 1996 (61±5 y 29±5%) y en 1997 ( $P<0.06$ , 65±7 y 77±6, respectivamente). Ataman y Aköz (2006) reportaron 85.7 y 84.6% de ovejas gestantes, sincronizadas con 10 µg de GnRH más 0.294 mg de un análogo de PGF<sub>2α</sub>, y PGF<sub>2α</sub> más 400 U.I. de eCG; y Peralta-Ortiz (2007) quien reportó 60% de gestaciones en ovejas sincronizadas con esponjas impregnadas con 40 mg de FGA, bajo dos modalidades de alimentación complementadas con grasa de sobrepeso. Por lo tanto, los resultados obtenidos en esta investigación, se

pueden atribuir al número de unidades experimentales utilizadas, lo que sugiere que para futuras investigaciones en esta línea de investigación, se aumente el número de repeticiones por tratamiento y así, evitar efectos confundidos entre tratamientos.

### 5.6. Prolificidad

La prolificidad de las ovejas de pelo entre tratamientos fue similar ( $P>0.05$ ). Se encontró mayor número de corderos nacidos por oveja con el tratamiento 1, con respecto a los del tratamiento 4, tal y como se ilustra en el Cuadro 18.

Cuadro 18. Cantidad de corderos de pelo nacidos por ovejas paridas según tratamientos.

Prolificidad	T1 (n=12)	T2 (n=13)	T3 (n=17)	T4 (n=15)
Me	1.66 <sup>a</sup>	1.53 <sup>a</sup>	1.35 <sup>a</sup>	1.20 <sup>a</sup>
± E. E.	0.13	0.13	0.11	0.12
Media general	1.41			

<sup>a</sup>: Medias con la misma literal en columnas son iguales ( $P> 0.05$ ).

Me ± E.E.: Media ± error estándar, T: Tratamiento, n= Número de ovejas.

T1: Dispositivo intravaginal (CIDR; P<sub>4</sub>: 0.62 g) durante nueve días + Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) 300 unidades internacionales (U.I.) a los tres días previos al retiro del CIDR.

T2: CIDR durante nueve días + L-arginina adicionada al alimento 500 mg kg<sup>-1</sup> de peso vivo durante tres días hasta el retiro del CIDR + eCG 300 U.I. a los tres días previos al retiro del CIDR.

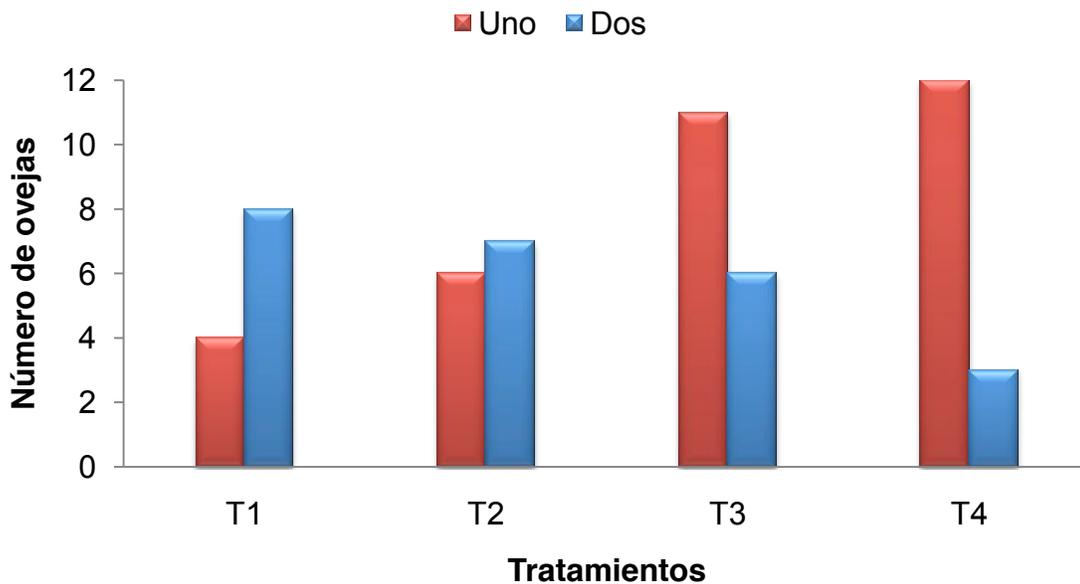
T3: CIDR durante nueve días + L-arginina adicionada al alimento 500 mg kg<sup>-1</sup> de peso vivo durante tres días hasta el retiro del CIDR.

T4: CIDR durante nueve días.

La prolificidad promedio en este estudio fue 1.41 corderos oveja<sup>-1</sup>, valor estadísticamente similar a 1.39 corderos oveja<sup>-1</sup>, reportado por Bulbarela-García *et al.* (2009). Dicho valor, difiere con los resultados publicados por Husein y Ababneh (2008) quienes utilizaron ovejas *Awassi*, pero en época no reproductiva, inducidas al estro con esponjas de MAP más un complemento adicional de MAP y obtuvieron 1.00±0.00 y 1.3±0.1 corderos oveja<sup>-1</sup>, respectivamente; y utilizando CIDR o CIDR más un complemento adicional de P<sub>4</sub> (1.00±0.00 y 1.4±0.1 corderos oveja<sup>-1</sup>, respectivamente). Con cruza de ovejas *Akkaraman* durante época reproductiva, utilizando 10 µg de GnRH más 0.294 mg de PGF<sub>2α</sub> análogo, Ataman y Aköz (2006) obtuvieron una prolificidad de 1.70 corderos oveja<sup>-1</sup>, y 1.66 corderos oveja<sup>-1</sup> aplicando

PGF<sub>2α</sub> más 400 U.I. de eCG. Así, Carrillo *et al.* (2007) obtuvieron una prolificidad de 1.64 corderos *Pelibuey* oveja<sup>-1</sup>, al utilizar 45 mg de FGA por 12 días más 125 mg de somatotropina bovina (bST) cinco días antes de remover la esponja. Sin embargo, difieren de los resultados reportados por Avendaño-Reyes *et al.* (2007) quienes sincronizaron ovejas *Pelibuey* con esponjas de 40 mg de FGA por 12 días más 500 U. I. de eCG al momento de retirar la esponja, y posteriormente las inseminaron con semen congelado de tres razas de pelo (*Katahdin*, *Dorper* y *Pelibuey*), con lo que obtuvieron una prolificidad de 2.7, 2.1 y 2.6 corderos oveja<sup>-1</sup>, según la raza de semental, respectivamente. En diversos estudios, la prolificidad en ovejas de pelo se ha reportado como baja. Perón *et al.* (1991) resumieron que en ovejas de pelo, principalmente *Pelibuey*, la prolificidad puede ser de 1.2 a 1.6 corderos oveja<sup>-1</sup>, similar a la media general obtenida en esta investigación. Por otro lado, para el caso de las ovejas de lana, solamente se obtuvo 1.0 corderos oveja<sup>-1</sup>. Estos resultados difieren con los reportados por Evans *et al.* (2004) quienes sincronizaron ovejas *Suffolk* con MAP por 12 días y efecto macho al día 9, retirándolos en el momento de remover la esponja, más una aplicación de eCG, obteniendo con eCG y en ausencia de carnero, una prolificidad de 1.70±0.06 y 1.93±0.06 corderos oveja<sup>-1</sup>, valores diferentes (P<0.05) a 2.26±0.07 y 2.28±0.10 corderos oveja<sup>-1</sup>, sin eCG y con presencia de machos, respectivamente.

La frecuencia de los corderos de pelo nacidos por ovejas paridas, se observa en la Figura 7. Con el tratamiento 1, 33.33% de ovejas parieron un solo cordero, con el tratamiento 4, 80% de ovejas parieron un cordero. Sin embargo, las ovejas del tratamiento 4, presentaron el menor porcentaje de partos dobles (20%), con respecto a las ovejas del tratamientos uno, dos y tres, las cuales presentaron 66.67, 53.84 y 35.29% de partos dobles. Estos resultados son diferentes con los reportados por Zarcawi (2001) quien encontró en época reproductiva de ovejas *Awassi*, una tasa gemelar del 50%, al sincronizar el estro con esponjas con 60 mg de MAP más 500 U. I. de eCG, al momento de retirar las esponjas. La variación de los resultados reportados por diferentes autores posiblemente se debe a la dosis de los fármacos utilizados en el manejo reproductivo de los animales.



Diferente color en columnas indica cantidad de corderos nacidos por oveja, según tratamientos.

T: Tratamiento.

T1: Dispositivo intravaginal (CIDR; P<sub>4</sub>: 0.62 g) durante nueve días + Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) 300 unidades internacionales (U.I.) a los tres días previos al retiro del CIDR.

T2: CIDR durante nueve días + L-arginina adicionada al alimento 500 mg kg<sup>-1</sup> de peso vivo durante tres días hasta el retiro del CIDR + eCG 300 U.I. a los tres días previos al retiro del CIDR.

T3: CIDR durante nueve días + L-arginina adicionada al alimento 500 mg kg<sup>-1</sup> de peso vivo durante tres días hasta el retiro del CIDR.

T4: CIDR durante nueve días.

Figura 7. Cantidad de ovejas de pelo paridas de acuerdo con el número de corderos nacidos.

## VI. CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos en la presente investigación se concluye lo siguiente:

a) Para el estudio en ovejas de pelo:

El efecto de los tratamientos no influyó en el porcentaje de manifestaciones externas de estro de las ovejas.

El inicio del estro fue mejor en aquellas ovejas sincronizadas con CIDR y eCG.

El porcentaje de retorno a estro, gestación y parición no fueron afectados por los tratamientos.

La tasa ovulatoria y prolificidad de las ovejas obtenidas con los tratamientos CIDR y CIDR más eCG presentaron el mismo efecto al adicionar L-arginina a la dieta.

b) Para el estudio en ovejas de lana:

El porcentaje de manifestaciones externas de estro no fue afectado por los tratamientos.

El inicio de estro fue mejor en las ovejas con los tratamientos T1 y T2.

El efecto de los tratamientos no influyó en el porcentaje de retorno a estro, gestación y parición.

El porcentaje de gestación coincidió con el porcentaje de parición. La adición de L-arginina a la dieta no repercutió en tasa ovulatoria y prolificidad de las ovejas sincronizadas con CIDR con y sin eCG.

### SUGERENCIA

Se sugiere que para futuras investigaciones en esta línea de investigación, se aumente el número de repeticiones por tratamiento y con ello, se evite efectos confundidos entre tratamientos.

## VII. LITERATURA CITADA

- Aguan, K., B. V. Mahesh, L. Ping, G. Bhat, and D. W. Brann. 1996. Evidence for a physiological role for nitric oxide in the regulation of the LH surge: effect of central administration of antisense oligonucleotides to nitric oxide synthase. *Neuroendocrinology*. 64: 449–455.
- Ataman, M. B., and M. Aköz. 2006. GnRH-PGF2 $\alpha$  and PGF2 $\alpha$ -PGF2 $\alpha$  synchronization in Akkaraman cross-bred sheep in the breeding season. *Bull Vet. Inst. Pulawy*. 50: 101-104.
- Avendaño-Reyes, L., F. D. Álvarez-Valenzuela, L. Molina-Ramírez. R. Rangel-Santos, A. Correa-Calderón, J. Rodríguez-García, M. Cruz-Villegas, P. H. Robinson, and T. R. Famula. 2007. Reproduction performance of Pelibuey ewes in response to estrus synchronization and artificial insemination in northwestern Mexico. *J. Anim. Vet. Adv.* 6 (6): 807-812.
- Barbul, A., G. Rettura, S. M., Levenson, and E. Seifter. 1983. Wound healing and thymotropic effects of arginine: a pituitary mechanism of action. *Amer. J. Clin. Nutr.* 37: 786.
- Bari, F., M. Khalid, W. Haresign, A. Murray, and B. Merrel. 2003. Factors affecting the survival of sheep embryos after transfer within a MOET program. *Theriogenology*. 59: 1265-1275.
- Beck, N. F. G., B. Davies, and S. P. Williams. 1993. Oestrus synchronization in ewes-the effect of combining a prostaglandin analogue with a 5-day progestagen treatment. *Anim. Prod.* 56: 207-210.
- Bhat, G. K., V. B. Mahesh, C. A. Lamar, L. Ping, K. Aguan, and D. H. Brann. 1995. Histochemical localization of nitric oxide neurons in the hypothalamus: association with gonadotropin-releasing hormone neurons and co-localisation with N-methyl-D-aspartate receptors. *Neuroendocrinology*. 62: 187–197.
- Bonavera, J. J., and S. P. Kalra. 1996. L-arginine/nitric oxide amplifies the magnitude and duration of the luteinizing hormone surge induced by estrogen: involvement of neuropeptide Y. *Endocrinology*. 137: 1956–1962.
- Bonavera, J. J., A. Sahu, and P. S. Kalra. 1994. Evidence in support of nitric oxide (NO) involvement in the cyclic release of prolactin and LH surges. *Brain. Res.* 660: 175–179.
- Brann, D. W., and V. B. Mahesh. 1995. Glutamate: A major neuroendocrine excitatory signal mediating steroid effects on gonadotropin secretion. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 53: 325-329.
- Bredt, D. S., and S. H. Snyder. 1994. Nitric oxide: A physiologic messenger molecule. *Annu. Rev. Biochem.* 63: 175–195.
- Bulbarela-García G., A. Pro-Martínez, C. M. Becerril-Pérez, P. Díaz-Rivera, A. Rosendo-Ponce y J. Gallegos-Sánchez. 2009. Efecto de L-arginina y aceite de pescado en el comportamiento reproductivo de ovejas de pelo sincronizadas con un progestágeno. *Agrociencia* (43): 371-377.
- Buffet, N. C., and P. Bouchard. 2001. The neuroendocrine regulation of the human ovarian cycle. *Chronobiol. Int.* 18: 893-919.
- Caraty, A. 2001. The neural control of ovulation in the ewe: Dynamics of steroid regulation of GnRH secretion during the oestrus cycle. *In: Memorias del II Curso Internacional de Fisiología de la Reproducción en Rumiantes*. Septiembre 18 – 21. Montecillo, Texcoco, estado de México. p. 137-154.

- Caraty, A., and D. C. Skinner. 1999. Progesterone priming is essential for the full expression of the positive feedback effect of estradiol in inducing the preovulatory gonadotropin-releasing hormone surge in the ewe. *Endocrinology*. 140: 165-170.
- Carrillo, F., J. Hernández-Cerón, V. Orozco, J. A. Hernández, C. G. Gutiérrez. 2007. A single dose of bovine somatotropin 5 days before the end of progestin-based estrous synchronization increases prolificacy in sheep. *Anim. Rep. Sci.* 102: 31–37.
- Castonguay, F., J. J. Dufour, F. Minvielle, and R. Estrada. 1990. Follicular dynamics and dominance in Booroola X Finnish Landrace and Booroola X Suffolk ewes heterozygous for the F gene. *J. Rep. Fertil.* 89: 193-203.
- Chatterjee, C., T. J. Collins, and C. Yallampalli. 1997. Inhibition of nitric oxide facilitates LH release from rat pituitaries. *Life Sci.* 61: 45–50.
- Chemineau, P., B. Malpoux, J. A. Delgadillo, Y. Guérin, J. P. Ravault, J. Thimonier, and J. Pelletier. 1992. Control of sheep and goat reproduction: Of light and melatonin. *Anim. Rep. Sci.* 30: 157-184.
- Chew, B. P., J. R. Eisenman, and T. S. Tanaka. 1984. Arginine infusion stimulates prolactin, growth hormone, insulin and subsequent lactation in pregnant dairy cows. *J. Dairy Sci.* 67: 2507.
- Clark, R. T. 1934. Studies of reproduction in sheep I. The ovulation rate of the ewe as affected by the plane of nutrition. *Anatomical Record*. 60: 125-134.
- Contreras-Solís, I., T. Díaz, G. López, A. Caigua, H. García, A. Salvador y A. González-Bulnes. 2007. Evaluación de la ecografía transrectal para la detección y medición de cuerpos lúteos en ovejas de pelo. *Arch. Latin. Prod. Anim.* 15 (3): 114-118.
- Coop, I. E., 1966. Effect of flushing on reproductive performance of ewes. *J. Agric. Sci. Camb.* 67: 305-323.
- Cruickshank, G. C., J. F. Smith, and D. G. Fraser. 1988. *Proc. N. Z. Soc. Anim. Prod.* 48: 77-79.
- Das, G. K., S. M. K. Naqvi, R. Gulyani, S. R. Pareek, and J. P. Mittal. 2000. Effect of two doses of progesterone on estrus response and fertility in acycling crossbred Bharat Merino ewes in a semi-arid tropical environment. *Small Rum. Res.* 37: 159-163.
- Davis, S. L. 1972. Plasma levels of prolactin, growth hormone, and insulin in sheep following the infusion of arginine, leucine and phenylalanine. *Endocrinology*. 91: 549.
- Davenport, G. M., J. A. Boling, and K. K. Schillo. 1990a. Nitrogen metabolism and somatotropin secretion in beef heifers receiving abomasal arginine infusions. *J. Anim. Sci.* 68: 1683.
- Davenport, G. M., J. A. Boling, K. K. Schillo, and D. K. Aaron. 1990b. Nitrogen metabolism and somatotropin secretion in lambs receiving arginine and ornithine via abomasal infusion. *J. Anim. Sci.* 68: 222.
- De Santiago-Miramontes, M. A., R. Rivas-Muñoz, M. Muñoz-Gutiérrez, B. Malpoux, R. J. Scaramuzzi, and J. A. Delgadillo. 2007. The ovulation rate in anoestrous female goats managed under grazing conditions and exposed to the male effect is increased by nutritional supplementation. *Anim. Rep. Sci.*
- Dhandapani, K. M. and, D. W. Brann. 2000. The role of glutamate and nitric oxide in the reproductive neuroendocrine system. *Biochem. Cell Biol.* 78 (3): 165-79. Abstract.

- Díaz, R. P., H. G. Torres, H. J. G. Herrera, M. M. Morales, y A. A. R. Pulido. 1995. Características de crecimiento predestete en corderos Pelibuey, Florida y sus cruas (F1) en el trópico de México *In: Memorias del VIII Congreso Nacional de Producción Ovina*. AMTEO. Toluca, México. 8-10 pp.
- Dixit, V. D., and N. Parvizi. 2001. Nitric oxide and the control of reproduction. *Review. Anim. Rep. Sci.* 65: 1–16.
- Dong, Y. L., P. R. Gangula, L. Fang, and C. Yallampalli. 1999. Nitric oxide reverses prostaglandin-induced inhibition in ovarian progesterone secretion in rats. *Hum. Reprod.* 14: 27–32.
- Downing, J. A., J. Joss, and R. J. Scaramuzzi. 1996. The effects of N-methyl-D-L-aspartic acid and aspartic acid on the plasma concentration of gonadotrophins, GH and prolactin in the ewe. *J. Endocrinology.* 149: 65-72.
- Downing, J. A., J. Joss, and R. J. Scaramuzzi. 1997. Ovulation rate and the concentrations of LH, FSH, GH, prolactin and insulin in ewes infused with tryptophan, tyrosine or tyrosine plus phenylalanine during the luteal phase of the oestrous cycle. *Anim. Rep. Sci.* 45: 283-297.
- Downing, J. A., and R. J. Scaramuzzi. 1991. Nutrient effects on ovulation rate, ovarian function and the secretion of gonadotrophic and metabolic hormones in sheep. *J. Rep. and Fert. Suppl.* 43: 209-227.
- Emsen, E. and M. Yaprak. 2006. Effect of controlled breeding on the fertility of Awassi and Red Karaman ewes and the performance of the offspring. *Small Rum. Res.* 66: 203-235.
- Eppleston, J. A., A. S., Faure, and J. M. Smith. 1991. Effect of time of PMSG and GnRH on the time of ovulation, LH secretion and reproductive performance after intrauterine insemination with frozen ram semen. *J. Anim. Rep. Sci.* 26: 227-237.
- Evans, A. C. O., P. Duffy, T. F. Crosby, P. A. R. Hawken, M. P. Boland, and A. P. Beard. 2004. Effect of ram exposure at the end of progestagen treatment on estrus synchronization and fertility during the breeding season in ewes. *Anim. Rep. Sci.* 84: 349–358.
- Fabre-Nys, C., and G. B. Martin. 1991. Roles of progesterone and oestradiol in determining the temporal sequence and quantitative expression of sexual receptivity and preovulatory LH surge in the ewe. *J. Endocrinology.* 130: 367-379.
- Faletti, A. G., C. A. Mastronardi, A. Lomniczi, A. Seilicovich, M. Gimeno, S. M. McCann, and V. Rettori. 1999a.  $\beta$ -Endorphin blocks luteinizing hormone-releasing hormone release by inhibiting the nitricoxidergic pathway controlling its release. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 96: 1722–1726.
- Faletti, A., S. P. Martínez, C. Perotti, and A. F. de Gimero. 1999b. Activity of ovarian nitric oxide synthase during ovulatory process in the rat: relationship with the prostaglandin production. *Nitric Oxide* 3: 340–347.
- Fletcher, I. C. 1971. Effects of oestrogen on the fertility of ewes at progesterone-synchronized oestrus. *Aust. J. Agric. Res.* 22: 821-827.
- Forcada F., J. M. Lozano, J. A. Abecia, and L. Zaragaza. 1997. Control of luteinizing hormone secretion in ewes by endogenous opioids and the dopaminergic system during short seasonal anoestrus: role of plane of nutrition. *J. Anim. Sci.* 65: 217-224.
- Foster, D.L. & Olster, D.H. 1985. Effect of restricted nutrition on puberty in the lamb: patterns of tonic luteinizing hormone (LH) secretion and competency of the LH surge. *Endocrinology.* 116: 375-381.

- Fridén, B. E., E. Runesson, M. Hahlin, and M. Brännstrom. 2000. Evidence for nitric oxide as a luteolytic factor in the human corpus luteum. *Molecular Human Reproduction*. 6(5):397-403.
- Gallegos-Sánchez J., B. Delaleu, A. Caraty, B. Malpoux, and J. C. Thiéry. 1997. Estradiol acts locally within the retrochiasmatic area to inhibit pulsatile luteinizing-hormone release in the female sheep during anestrus. *Biol. Reprod.* 56: 1544-1549.
- García, E. 1988. *Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen*. 3ª edición. Editorial FOCET. 246 p.
- Grossmann, A. B., W. Rossmanith, E. Kabigting, G. Cadd, D. Clifton, R. Steiner. 1994. The distribution of hypothalamic nitric oxide synthase mRNA in relation of gonadotropin-releasing hormone neurons. *J. Endocrinology*. 140: R5–R8.
- Gunn, R. G. 1977. The effects of two nutritional environments from six weeks prepartum to 12 months of age on lifetime performance and reproductive potential of Scottish Blackface ewes in two adult environments. *Anim Prod.* 25 (2): 155-164.
- Gutiérrez, A. C. 2001. Influencia de la nutrición en la reproducción. *In: II Curso Internacional Fisiología de la Reproducción en Rumiantes, estado de México, México*.
- Hafez, E. S. E., and B. Hafez. 2002. Reproductive cycles. Chapter 4. *In: Hafez, E.S.E., and B. Hafez eds. Reproduction and artificial insemination in farm animals*. 7<sup>th</sup> edition. Mc Graw Hill Interamericana. México, D. F. 55-67.
- Hamra, A. H., J. W. McNally, J. M. Marcek, K. M. Carlson, and J. E. Wheaton. 1989. Comparison of progesterone sponges and controlled internal drug release dispensers on fertility in anestrous ewes. *Anim. Rep. Sci.* 11:187-194.
- Hamra, A. H., M. A. F. Al-Dabbas, and F. T. Awawdeh. 2003. Effect of arginine supplementation on puberty and some reproductive traits in female Awassi sheep. *Arab Authority for Agricultural Investment and Development (AAID). Journal Issue 2003.* 82-85. <http://www.aaaid.org/pdf/magazine/Arginine%2082-85.pdf>
- Hashemi, M., M. Safdarian and M. Kafi. 2006. Estrous response to synchronization of estrous using different progesterone treatments outside the natural breeding season in ewes. *Small Rum. Res.* 65: 279-283.
- Hawes, B. E., and P. M. Coon. 1991. GnRH-Mediated actions in gonadotrope. Chapter 21. *In: Yen and Vale (eds.). Neuroendocrine Regulation of Reproduction*. pp: 219-328.
- Hedin, S. G. 1895. Eine Methode das Lysin zu isoliren, nebst einigen Bemerkungen überdas Lysatinin. *Z. Physiology Chemistry. (Strassb.)* 21: 297-305.
- Herrera-Camacho, J., J. R. Aké-López, J. C. Ku-Verab, G. L. Williams, and J. A. Quintal-Franco. 2008. Ovulatory response and embryo quality and development in superovulated Pelibuey ewes supplemented with polyunsaturated fatty acids in the diet. *Téc. Pec. Méx.* 46 (2):107-117.
- Hernández, M. A. 2003. Sincronización de estros en ovejas Pelibuey: Efecto del líquido folicular equino. Tesis de Licenciatura. Departamento de Zootecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 62 p.
- Honaramooz, A., S. J. Cook, A. P. Beard, P. M. Bartlewski, and N. C. Rawling. 1999. Nitric oxide regulation of gonadotropin secretion in prepubertal heifers. *J. Neuroendocrinology*. 11: 667–676.

- Husein, M. Q., and M. M. Ababneh. 2008. A new strategy for superior reproductive performance of ewes bred out-of-season utilizing progesterone supplement prior to withdrawal of intravaginal pessaries Theriog. 69: 376–383.
- Iglesias, R. M. R., N. H. Ciccio, and H. Irazoqui. 1997. Ram induced reproduction in seasonally anovular Corriedale ewes: MAP doses for oestrous induction, ram percentages and postmating progesterone supplementation. Anim. Sci. (Pencaitland) 64:119-125.
- Jainuddin, M. R., H. Wahid, and E.S.E. Hafez. 2002. Sheep and goats. Chapter 12. *In*: Hafez, E.S.E., and B. Hafez (eds.). Reproduction and artificial insemination in farm animals. 7<sup>th</sup> edition. Mc Graw Hill Interamericana. México, D. F. 177-187.
- Knight, T. W., C. M. Oldham, and D. R. Lindsay. 1975. Studies in ovine infertility in agricultural regions in Western Australia: the influence of a supplement of lupins (*Lupinus angustifolius* cv. Uniwhite) at joining on the reproductive performance of ewes. Aust. J. Agr. Res. 26: 567-575.
- Knight, M., T. Hoehn, P. E. Lewis, and E. K. Inskeep. 2001. Effectiveness of intravaginal progesterone inserts and FSH for inducing synchronized estrus and increasing lambing rate in anestrus ewes. J. Anim. Sci. 79: 1120-1131.
- Kridli, R. T., M. Q. Husein and W. D. Humphrey. 2003. Effect of royal jelly and GnRH on the estrus synchronization and pregnancy rate in ewes using intravaginal sponges. Small Rum. Res. 49: 25-30.
- Kusina, N. T., F. Tarwirei, H. Hamudikuwanda, G. Agumba, and J. Mukwena. 2000. A comparison of the effects of progesterone sponges and ear implants, PGF<sub>2α</sub>, and their combination of efficacy of estrus synchronization and fertility of Mashona goat does. Theriogenology. 53: 1567-1580.
- Leboeuf, B., E. Manfredi, P. Boue, A. Piacere, G. Brice, G. Bari, C. Broqua, P. Humblot, and M. Terqui. 1998. Artificial insemination of dairy goats in France. Liv. Prod. Sci. 55: 193-203.
- Lindsay, D. R., T. W. Knight, J. F. Smith, and C. M. Oldham. 1975. Studies in ovine fertility in agricultural regions of Western Australia: ovulation rate, fertility and lambing performance. Aust. J. Agric. Res. 26: 189-198.
- López-Sebastián A. 1991. Descarga ovulatoria de LH y momento de la ovulación en ovejas con celo inducido mediante progestágenos y PMSG. I. A. Prod. San. Anim. 6: 123-131.
- López, S. A., B. A. González, y M. J. Santiago. 2001. Manejo Reproductivo en Pequeños Rumiantes. *In*: II Curso Internacional Fisiología de la Reproducción en Rumiantes, Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México, México. p 1- 22.
- Luther, J. S., A. T. Grazul-Bilska, J. D. Kirsch, R. M. Weigl, K. C. Kraft, C. Navanukraw, D. Pant. L. P. Reynolds, and D. A. Redmer. 2007. The effect of GnRH, eCG and progestin type on estrus synchronization following laparoscopic AI in ewes. Small Rum. Res. 72: 227-231.
- Marian, J. L. 1982. Gonadotropin-releasing hormone receptor in the rat pituitary: characterization and investigation of physiological changes (Dissertation), Duke University, Durham, NC.
- Martin, G. B. 2003. Interacción genotipo-ambiente en el control neuroendócrino del sistema reproductivo en pequeños rumiantes. *In*: Memorias del III Curso Internacional de Fisiología de la Reproducción de Rumiantes. Septiembre 23-26. Colegio de Postgraduados, Ganadería. Montecillo, Texcoco, estado de México. pp: 27-58.

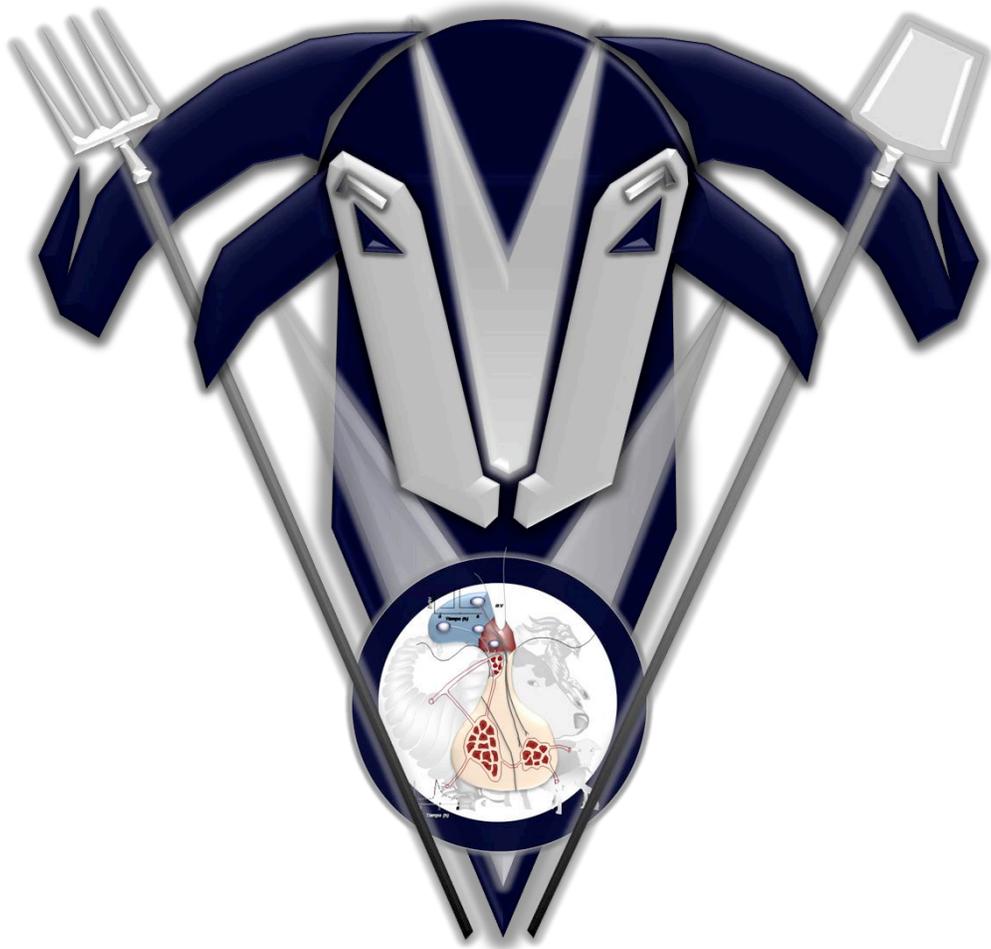
- Martin G. B. y J. Gallegos-Sánchez. 2005. *In: Memorias del IV Curso Internacional de Fisiología de la Reproducción de Rumiantes (Prefacio)*. Colegio de Postgraduados, Ganadería-IREGEP. Montecillo, Texcoco, estado de México. pp: 27-58.
- McDonald, L. E. 1989. *Reproducción y Endocrinología*. Interamericana, México. D. F. 466 p.
- McDonald, J. W., and M. V. Johnstone. 1990. Physiological and pathophysiological roles of excitatory amino acids during central nervous system development. *Brain Res. Rev.* 15: 41-70.
- McNeilly, A. S., W. Crow, J. Brooks, and G. Evans. 1992. Luteinizing hormone pulses follicle-stimulating hormone and control of follicle selection in sheep. *J. Rep. Fert. Suppl.* 45: 5-19.
- Menegatos, J., S. Chadio, T. Kalogiannis, T. Kouskoura, and S. Kouimtzis. 2003. Endocrine events during the periestrus and the subsequent estrous cycle in ewes after estrus synchronization. *Theriogenology.* 59: 1533-1543.
- Meyer, S. L. and R. L. Goodman. 1985. Neurotransmitters involved in mediating the steroid-dependent suppression of pulsatile luteinizing hormone secretion in anoestrus ewes: effects of receptors antagonists. *Endocrinology.* 116: 2054-2061.
- Mitsube, K., M. Mikumi, M. Matousek, M. Brannstrom, M. 1999. Effects of a nitric oxide donor and nitric oxide synthase inhibitors on luteinizing hormone-induced ovulation in the ex-vivo perfused rat ovary. *Hum. Reprod.* 14: 2537-2543.
- Motta, A. B., A. Estevez, M. F. de Gimeno. 1999. The involvement of nitric oxide in corpus luteum regression in the rat: feedback mechanism between prostaglandins F2a and nitric oxide. *Mol. Hum. Reprod.* 5, 1011-1016.
- Montgomery, G. W., I. C. Scott, and N. L. Hudson. 1985. An interaction between season of calving and nutrition on the resumption ovarian cycles in postpartum beef cattle. *J. Rep. Fert.* 73. 45-50.
- Niswender, G. D., J. L. Juengel, P. J. Silva, M. K. Rollyson, and E. W. McIntush. 2000. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiol. Rev.* 80: 1-29.
- Nottle, M. B., D. O. Kleemann, and R. F. Seamark. 1997. Effect of previous undernutrition on the ovulation rate of Merino ewes supplemented with lupin grain. *Anim. Rep. Sci.* 49: 29-36.
- Pardridge, W. 1983. Brain metabolism: A perspective from the blood-brain barrier. *Physiol. Rev.* 63: 1481.
- Pau, M. Y., and J. A. Milner. 1982. Dietary arginine and sexual maturation of the female rat. *J. Nutr.* 112: 1834.
- Pearsea, B. H. G., N. P. McMeniman, and I. A. Gardner. 1994. Influence of body condition on ovulatory response to lupin (*Lupinus angustifolius*) supplementation of sheep. *Small Rum. Res.* 13: 27-32 (Abstract).
- Peralta-Ortíz, J. J. G. 2007. *Uso de grasa de sobrepeso y su influencia en la calidad y transferencia de embriones en ovejas Dorset*. Tesis de Doctor en Ciencias. Programa de Ganadería. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, estado de México. 119 p.
- Perón, N., T. Y. Limas, y J. L. Fuentes. 1991. El ovino Pelibuey de Cuba. Revisión bibliográfica de algunas características productivas. *Revista Mundial de Zootecnia.* 66: 32-39.

- Peyron, C., D. K. Tighe, A. N. van den Pool, L. de Lecea, H. C. Heller, J. G. Sutcliffe, T. S. Kilduff. 1998. Neurons containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems. *J. Neuroscience*. 18: 9996-10015.
- Pinilla, L., D. González, M. J. Sempere, E. Aguilar. 1998. Nitric oxide stimulates gonadotropin secretion in vitro through a calcium dependent and cGMP-independent mechanism. *Neuroendocrinology* 68: 180–186.
- Popwell, J. M., M. J. Estienne, R. R. Kraeling, C. R. Barb, N. C. Whitley, R. V. Utley, and G. M. Rampacek. 1996. The role of excitatory amino acids in pulsatile secretion of luteinizing hormone in gilts and barrows. *J. Anim. Sci.* 74:1067-73.
- Prast, H., and A. Philippu. 2001. Nitric oxide as modulator of neuronal function. *Progress in Neurobiology*. 64: 51–68.
- Pu, S., T. L. Horvath, S. Diano, F. Waftolin, P. S. Kara, and S. P. Kalra. 1997. Evidence showing that  $\beta$ -endorphin regulates cyclic guanosine phosphate 3',5'-monophosphate (cGMP) efflux: anatomical and functional support for an interaction between opiates and nitric oxide. *Endocrinology* 138: 1537–1543.
- Rattray, P. V. 1977. In: *Reproduction in Domestic Animals*. Cupps, P. T., and H. H. Cole (eds.). 3rd edition. Academic Press, New York. pp: 553-575.
- Recabarren, S. E., A. Jofré, A. Lobos, P. Orellana, and J. Parilo. 1996. Effect of arginine and ornithine infusions on luteinizing hormone secretion in prepubertal ewes. *J. Anim. Sci.* 74: 162–166.
- Rettori, V., N. Belova, W. Dees, C. Nyberg, M. Gimeno, and S. M. McCann. 1993. Role of nitric oxide in the control of luteinizing hormone releasing hormone release in *Vivo* and in *Vitro*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90: 10130–10134.
- Rhind, S. M. 1992. Nutrition: its effects on reproductive performance and its hormonal control in female sheep and goats. *Progress in sheep and goat research*. 25-51.
- Rodríguez-Castillo, J. C., y Pró-Martínez, A. 2005. Factores metabólicos que intervienen en la secreción de GnRH. *In: Memorias del IV Curso Internacional de Fisiología de la Reproducción de Rumiantes*. Colegio de Postgraduados, Ganadería-IREGEP. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 29-40.
- Rodríguez-Castillo, J. C., Pró, M. A., Becerril, P. C. M., Figueroa S. B., y Gallegos, S. J. 2004. Respuesta reproductiva y tasa ovulatoria en cabras Boer x Nubia en diferentes épocas del año. *Interciencia*. 29 (8): 468-472.
- Rodríguez-Mejía, R., R. Díaz-López, F. J. V. Franco-Guerra, E. O. A. Villarreal, M. M. Méndez, C. R. Huerta, J. Gallegos-Sánchez J., A. Pró-Martínez A., G. B. Martín, y Rodríguez-Castillo, J. C. 2007. Suplementación pre-empadre y su efecto en la presentación y tiempo de respuesta del estro de ovejas Pelibuey. V Congreso de Especialistas en Pequeños Rumiantes y Camélidos Sudamericanos, Mendoza, Argentina. *In: Sitio Argentino de Producción Animal*. [www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar)
- Rodríguez-Iglesias, R. M., N. H. Ciccioli, H. Irazoqui, and C. Giglioli. 1996. Ovulation rate in ewes after single oral glucogenic dosage during a ram-induced follicular phase. *Anim. Rep. Sci.* 44: 211-221.
- Rogers, Q. R., and W. J. Visek. 1985. Metabolic role of urea cycle intermediates: nutritional and clinical aspects. *J. Nutrition*. 115: 505.

- Rosado, J., E. Silva, and M. A. Galina. 1998. Reproductive management of hair sheep with progesterone and gonadotropins in the tropics. *Small Rum. Res.* 27: 237–242.
- Sakurai T, A. Amemiya, M. Ishii, I. Matsuzaki, R. M. Chemelli, H. Tanaka, C. Williams, J. A. Richardson, G. P. Koslowski, S. Wilson, J. R. S. Arch, R. E. Buckingham, A. C. Haynes, S. A. Carr, R. S. Annan, D. E. McNulty, W. S. Liu, J. A. Terrett, N. A. Elshourbagy, D. J. Bergsma, and M. Yanagisawa. 1998. Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell.* 92: 573-585.
- Salvemini, D., 1997. Regulation of cyclooxygenase enzymes by nitric oxide. *Cell. Mol. Life Sci.* 53: 576–582.
- SAS. 2002. Version 9.00 (TS M0). Copyright © by SAS Institute Inc. Cary, NC, USA. SAS. All Rights Reserved.
- Scaramuzzi, R. J., Baird, D. T., B. K. Campbell, J. A. Downing, J. K. Findlay, K. M. Henderson, G. B. Martin, K. P. McNatty, A. S. McNeilly, and C. G. Tsonis. 1993. A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in the ewe. *Rep. Fert. Dev.* 5: 459-478.
- Schulze, E. and Steiger, E. 1886. Ueber das Arginin. *Z. Physiol. Chem. (Strassb.)* 11: 43-65.
- Siasos, G., D. Tousoulis, C. Antoniades, E. Stefanadi, and C. Stefanadis. 2007. L-Arginine, the substrate for NO synthesis: An alternative treatment for premature atherosclerosis? (Review). *International Journal of Cardiology.* 116: 300-308.
- Simonetti, L., M. R. Blanco, and J. C. Gardón. 2000. Estrus synchronization in ewes treated with sponges impregnated with different doses of medroxyprogesterone acetate. *Small Rum. Res.* 38: 243-247.
- Smith, J. F. 1988. Influence of nutrition on ovulation rate in the ewe. *Aust. J. Biol. Res.* 41: 27.
- Somchit, A., B. K. Campbell, M. Khalid, N. R. Kendall, and R. J. Scaramuzzi. 2007. The effect of short-term nutritional supplementation of ewes with lupin grain (*Lupinus luteus*), during the luteal phase of the estrous cycle on the number of ovarian follicles and the concentrations of hormones and glucose in plasma and follicular fluid. *Theriogenology.* 68: 1037–1046.
- Spencer, T. E., and F. W. Bazer. 2002. Biology of progesterone action during pregnancy recognition and maintenance of pregnancy. *Front. Biosci. Sep.* 1879-1898.
- Steel, R. G. and J. H. Torrie. 1991. Principles and procedures of statistic. 2<sup>th</sup> edition. McGraw-Hill. Book Co. New York.
- Stellflug, J. N., P. G. Hatfield, M. C. Wulster-Radcliffe, J. W. Walker. 2001. Reproductive performance of ewe lambs from ewes from different selection practices with or without induced estrus. *Anim. Rep. Sci.* 66: 185–193.
- Sujak, A., A. Kotlarz, and W. Strobel. 2006. Compositional and nutritional evaluation of several lupin seeds. *Food Chemistry.* 98: 711–719.
- Tamanini, C., G. Basini, F. Grasselli and M. Tirelli. 2003. Nitric oxide and the ovary. *J. Anim. Sci.* 81(E. Suppl. 2):E1–E7.
- Teleni, E., W. R. King, J. B. Rowe, and G. H. McDowell. 1989. Lupins and energy-yielding nutrients in ewes. I. Glucose and acetate biokinetics and metabolic hormones in sheep fed a supplement of lupin grain. *Aust. J. Agric. Res.* 49: 913.

- Thiéry, J. C., and G. B. Martin. 1991. Neurophysiological control of the secretion of gonadotrophin-releasing hormone and luteinizing hormone in the sheep. A review. *Reprod. Fertil. Dev.* 3: 137-173.
- Thomas, D. L., P. J. Thomford, J. G. Crickman, A. R. Cobb and P. J. Dziuk. 1987. Effects of plane of nutrition and phenobarbital during the pre-mating period on reproduction in ewes fed differentially during the summer and mated in the fall *J. Anim. Sci.* 64: 1144-1152
- Torell, D. T. I. D. Hume and W. C. Weir. 1972. Effect of level of protein and energy during flushing on lambing performance of range ewes. *J. Anim. Sci.* 34: 479-482.
- Tsikas, D. 2007. Introduction Analysis of the L-Arginine/NO pathway. *Journal of Chromatography B.* 851: 1–2.
- Urbanski, H. F., and S. R. Ojeda. 1990. A role for N-metil-D-aspartate (NMDA) receptors in the control of LH secretion and initiation of puberty. *Endocrinology.* 126: 1774-1776.
- Urbanski, H. F., and M. Pierce. 1992. Photoperiodic control of seasonal breeding in Syrian hamsters: involvement of excitatory amino acids receptors. *Neuroendocrinology letters.* 14: 33-37.
- Urbanski, H. F., M. M. Fahy, M. Daschel. C. and Mashul. 1994. N-methyl-D-aspartate receptor gene expression in the hamster hypothalamus and in immortalized luteinizing hormone-releasing hormone neurons. *J. Rep. Fertil.* 100: 5-9.
- Valencia, M. and P. E. González. 1983. Pelibuey sheep in Mexico. *In: Fitzhugh, H. A., G. E. Bradford (eds.) Hair sheep of Western Africa and the Americas.* Winrock International, Westview Press, Boulder, CO, p. 319.
- van den Pool, A. N., J. P. Wuarin, and D. E. Dudek. 1990. Glutamate, the dominant excitatory transmitter in neuroendocrine regulation. *Science (Wash DC).* 250: 1276.
- Vidal-Valdés, V. 2004. Sincronización de estros en ovejas Dorset utilizando implantes de Norgestomet en diferentes días del ciclo estral. Tesis de Maestría. Programa de Ganadería. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, estado de México.
- Visek, W. J. 1986. Arginine needs, physiological state and usual diets. A reevaluation. *J. Nutr.* 116: 36.
- Webb, R., K. J. Woad, and D. G. Armstrong. 2002. Corpus luteum (CL) function: local control mechanisms. *Domest. Anim. Endoc.* 23: 277-285.
- White, C. L., C. D. Hanbury, P. Young, N. Phillips, S. C. Wiese, J. B. Milton, R. H. Davidson, K. H. M. Siddique, D. Harris. 2002. The nutritional value of *Lathyrus cicera* and *Lupinus angustifolius* grain for sheep. *Anim. Feed Sci. and Technology.* 99: 45–64.
- Wiesinger, H. 2001. Arginine metabolism and the synthesis of nitric oxide in the nervous system. *Progress in Neurobiology.* 64: 365–391.
- Wray, S. 2001. Development of luteinizing hormone releasing hormone neurones. *J. Neuroendocrinol.* 13: 3-11.
- Wray, S. 2002. Molecular mechanisms for migration of placodally derived GnRH neurons. *Chem. Senses.* 27: 569–572.
- Wroblewski, J. T., W. Blaker, and J. L. Meek. 1985. Ornithine as a precursor of neurotransmitter glutamate: Effect of canaline on ornithine aminotransferase activity and glutamate content in the septum of rat brain. *Brain Res.* 329: 161.

- Wuttke, W., K. Theiling, B. Hinney, and L. Pitzel. 1998. Regulation of steroid production and its function within the corpus luteum. *Steroids*. 63: 299-305.
- Yamauchi, J., T. Miyazaki, S. Iwasaki, I. Kishi, M. Kuroshima, C. Tei, and Y. Yoshimura. 1997. Effects of nitric oxide on ovulation and ovarian steroidogenesis and prostaglandin production in the rabbit. (*Endocrinology* 138(9): 3630–3637.
- Yellon, S. M., D. L. Foster., L. D. Longo, and J. M. Suttie. 1992. Ontogeny of the pineal melatonin rhythm and implications for reproductive development in domestic ruminants. *Anim. Rep. Sci.* 30: 91-112.
- Zarkawi. M. 2001. Oestrous synchronization and twinning rate of Syrian Awassi ewes treated with progestagen and PMSG during the breeding season. *New Zealand J. Agr. Res.* 44: 159-163
- Zeleke, M., J. P. C. Greyling, L. M. J. Schwalbach, T. Muller, and J. A. Erasmus. 2005. Effect of progestagen and PMSG on oestrous synchronization and fertility in Dorper ewes during the transition period. *Small Rum. Res.* 56: 47–53.



LaROCa