

COLEGIO DE POSTGRADUADOS

**INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION EN CIENCIAS
AGRÍCOLAS**

**CAMPUS MONTECILLO
POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GANADERÍA**

**PARÁMETROS REPRODUCTIVOS EN OVEJAS DE
PELO SUPLEMENTADAS CON GLICEROL, ACEITE DE
PESCADO Y L-ARGININA**

ROMÁN MÉNDEZ CASTILLO

T E S I S

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE**

DOCTOR EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2012

La presente tesis titulada “PARÁMETROS REPRODUCTIVOS EN OVEJAS DE PELO SUPLEMENTADAS CON GLICEROL, ACEITE DE PESCADO Y L-ARGININA” realizada por el alumno Román MÉNDEZ CASTILLO, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GANADERÍA

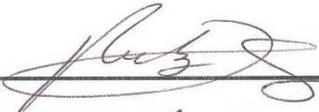
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:



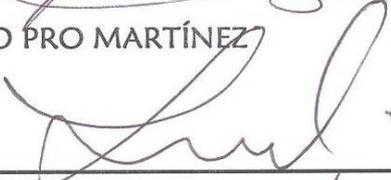
Dr. JAIME GALLEGOS SÁNCHEZ

ASESOR:



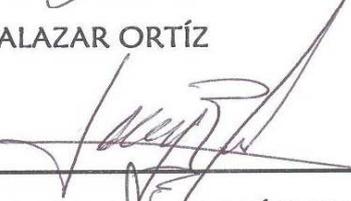
DR. ARTURO PRO MARTÍNEZ

ASESOR:



DR. JUAN SALAZAR ORTÍZ

ASESOR:



DR. JOSÉ DEL CARMEN RODRÍGUEZ CASTILLO

ASESOR:



DR. OMAR HERNÁNDEZ MENDO

Montecillo, Texcoco Estado de México, **Septiembre** de 2012.

DEDICATORIA

A la Virgen de Guadalupe y a Dios nuestro señor por su guía en mi vida profesional.

A mis padres Reyes Méndez Ibáñez y Dulce María Castillo Cárcamo por enseñarme y guiarme en mi vida, por sus consejos, amor, paciencia, cariño, apoyo y porque nunca me han dejado y ni me dejaran solo, ¡GRACIAS!

A mi esposa Jocelyn por su apoyo durante todo el tiempo de mis estudios doctorales.

A mi hijo Román por ser el motor de seguir triunfando y darme fuerzas para esquivar las barreras que se presentan en la vida. “Te amo peco”.

A mis hermanos Dulce y Reyes por su apoyo y amor que me han brindado hasta ahora y por los momentos que hemos pasado juntos.

A las Familia Flores Buendía por su apoyo incondicional y amistad que me han brindado “GRACIAS”.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por las facilidades otorgadas y al financiamiento brindado durante mis estudios doctorales.

Al Colegio de Postgraduados, por darme la oportunidad de realizar mis estudios de doctorado y por el financiamiento para la realización de la investigación a través del Feidecomiso Revocable de Administración e Inversión No. 167304 del año 2008/2010 y de la Línea Prioritaria de Investigación-11 (LPI-11).

Al Dr. Jaime Gallegos Sánchez por la dirección de esta tesis y por su apoyo incondicional en la fase experimental.

A los Doctores Arturo Pro Martínez, Juan Salazar Ortiz, José del Carmen Rodríguez Castillo y Omar Hernández Mendo por su dedicación y acertadas observaciones a la redacción final de esta tesis.

Al Dr. Cesar Cortes por sus valiosas aportaciones y correcciones a la tesis.

A los profesores Carlos Guillermo Germán Alarcón y Carlos Sánchez del Real de la Universidad Autónoma Chapingo del Departamento de Zootecnia por su apoyo incondicional durante la fase experimental de esta tesis.

A Fernando Silva y Silvia Fraire por su enorme apoyo incondicional durante la fase experimental de esta investigación. GRACIAS.

Al personal académico y administrativo del programa de Ganadería del Colegio de Postgraduados.

I.	<u>INTRODUCCIÓN GENERAL</u>	1
II.	<u>REVISIÓN DE LITERATURA</u>	3
	<u>2.1 Situación Actual de la Ovinocultura en México</u>	3
	<u>2.2 Patrón reproductivo en la oveja</u>	4
	<u>2.3 Ciclo estral</u>	4
	<u>2.4 Perfiles hormonales durante el ciclo estral</u>	5
	<u>2.5 Efecto de la nutrición en la estacionalidad de la oveja</u>	8
	<u>2.6 Desarrollo folicular</u>	9
	<u>2.7 Oleadas foliculares</u>	11
	<u>2.8 Tasa ovulatoria</u>	13
	<u>2.9 Influencia de la nutrición en la reproducción</u>	15
	<u>2.10 Influencia de la energía en la reproducción</u>	16
	<u>2.11 Lípidos</u>	17
	<u>2.12 Funciones de los lípidos</u>	18
	<u>2.13 Mecanismos de acción de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs)</u>	18
	<u>2.14 Efecto de la suplementación de ácidos grasos en la reproducción</u>	19
	<u>2.15 Suplementación de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) en rumiantes</u>	19
	<u>2.16 Efecto de la suplementación de los ácidos EPA y DHA en la reproducción</u>	22
	<u>2.17 Suplementación de grasa y síntesis de hormonas</u>	23
	<u>2.18 Síntesis de lípidos en el rumen</u>	25
	<u>2.19 Hidrólisis o lipólisis de los triacilgliceroles</u>	26
	<u>2.20 β-Oxidación de los ácidos grasos</u>	26
	<u>2.21 Biohidrogenación de los ácidos grasos</u>	28
	<u>2.22 Transporte de ácidos grasos libres</u>	29
	<u>2.23 Digestión de los ácidos grasos en el intestino</u>	30
	<u>2.24 Glicerol</u>	31
	<u>2.25 L-arginina</u>	34
	<u>2.26 Síntesis de arginina</u>	35
	<u>2.27 Oxido nítrico (NO)</u>	35
	<u>2.28 L-Glutamina</u>	38
III.	<u>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</u>	40
IV.	<u>ESTUDIOS REALIZADOS</u>	41
V.	<u>ESTUDIO 1</u>	41
VI.	<u>VARIABLES REPRODUCTIVAS EN OVEJAS DE PELO SUPLEMENTADAS CON GLICEROL, ACEITE DE PESCADO Y L-ARGININA</u>	41
	<u>6.1 Resumen</u>	41
	<u>6.2 Introducción</u>	42
VII.	<u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	43
	<u>7.1 Localización</u>	43
	<u>7.2 Animales</u>	43
	<u>7.3 Tratamientos</u>	43
	<u>7.4 Protocolo de sincronización</u>	44
	<u>7.5 Suplementación</u>	44
	<u>7.6 Variables estudiadas:</u>	46
	<u>7.7 Análisis Estadístico</u>	47
VIII.	<u>RESULTADOS</u>	48

<u>IX.</u>	<u>DISCUSIÓN</u>	50
<u>X.</u>	<u>CONCLUSIÓN</u>	52
<u>XI.</u>	<u>ESTUDIO II</u>	53
<u>XII.</u>	<u>VARIABLES REPRODUCTIVAS EN OVEJAS PELIBUEY SUPLEMENTADAS CON GLICEROL Y L-GLUTAMINA</u>	53
	<u>12.1 Resumen</u>	53
	<u>12.2 Introducción</u>	54
<u>XIII.</u>	<u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	56
	<u>13.1 Localización</u>	56
	<u>13.2 Animales</u>	56
	<u>13.3 Tratamientos</u>	56
	<u>13.4 Protocolo de sincronización</u>	57
	<u>13.5 Suplementación</u>	58
	<u>13.6 Variables estudiadas</u>	59
	<u>13.7 Análisis Estadístico</u>	59
<u>XIV.</u>	<u>RESULTADOS</u>	60
<u>XV.</u>	<u>DISCUSIÓN</u>	61
<u>XVI.</u>	<u>CONCLUSIÓN</u>	63
<u>XVII.</u>	<u>BIBLIOGRAFÍA</u>	64
<u>XVIII.</u>	<u>ANEXOS</u>	83

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Composición analizada de las dietas experimentales-----45

Cuadro 2. Características reproductivas de ovejas Pelibuey suplementadas con glicerol (G), aceite de pescado (AP) y L-arginina (AR) cinco días antes del empadre.-----48

Cuadro 3. Composición calculada del concentrado comercial-----58

Cuadro 4. Características reproductivas de ovejas Pelibuey suplementadas con glicerol (G) y L-glutamina (GLU) cuatro días antes del empadre-----60

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Cronograma de actividades durante el experimento -----46

Figura 2. Cronograma de actividades durante el experimento-----57

PARÁMETROS REPRODUCTIVOS EN OVEJAS DE PELO SUPLEMENTADAS CON GLICEROL, ACEITE DE PESCADO, L-ARGININA Y L-GLUTAMINA

Román Méndez Castillo, Dr.

Colegio de Postgraduados, 2012

RESUMEN

Entre los factores ambientales que influyen en la reproducción de las ovejas, el nivel de nutrición es uno de los más importantes, por ello el estímulo nutricional con alimentación focalizada es de gran utilidad para programar los eventos individuales de los procesos reproductivos. Se realizaron dos experimentos para determinar el efecto de la suplementación de glicerol (G), aceite de pescado (AP), L-arginina (AR) y L-glutamina (GLU) a ovejas de Pelibuey en la época reproductiva y de anestro estacional antes de la manifestación del estro, en la incidencia del estro (IE), en la tasa ovulatoria (TO), en tasa de retorno al estro (RE), en tasa de gestación (TG) y en la prolificidad. Al inicio de los experimentos las ovejas fueron sincronizadas al estro con un CIDR (9 días *in situ*), y el día 7 recibieron PGF_{2α}. El estro se detectó durante cuatro días iniciando 12 h post-retiro del CIDR. Las ovejas en estro fueron inseminadas (IA) 12 h post-estro. 45 días post IA se realizó diagnóstico de gestación. En el experimento 1 que corresponde a la época reproductiva el día 5, las ovejas fueron asignadas a uno de ocho tratamientos: 1) sin G, AP o AR (Testigo, n=21); 2) 100 ml G (n=21); 3) 70 mL AP (n=20); 4) 3 g AR (n=21); 5) 100 mL G + 70 mL AP (n=21); 6) 100 mL G + 3 g AR (n=21); 7) 70 mL AP + 3 g AR (n=21); 8) 100 mL G + 70 mL AP + 3 g AR (n=21). En el experimento 2 que corresponde a la época de anestro estacional el día 6, las ovejas fueron asignadas a uno de cuatro tratamientos: 1) sin G y GLU (Testigo; n=48); 2) 100 mL G (n=46); 3) 50 g GLU (n=46); 4) 100 mL G + 50 g GLU (n=48). No hubo diferencias ($P>0.05$) en IE, TO, RE, TG y prolificidad. La suplementación con G, AP, AR y GLU antes del estro no afectó las variables reproductivas de ovejas Pelibuey.

Palabras clave: Pelibuey, época de anestro, época reproductiva, glicerol, L-arginina, aceite de pescado, L-glutamina.

REPRODUCTIVE PARAMETERS IN HAIR SHEEP SUPPLEMENTED WITH GLYCEROL, FISH OIL, L-ARGININE AND L-GLUTAMINE.

Román Méndez Castillo, Dr.
Colegio de Postgraduados, 2012

ABSTRAC

Among the environmental factors influencing reproduction in sheep, the level of nutrition is one of the most important, therefore the food focused nutritional stimulus is useful to program individual events reproductive processes. Two experiments were conducted to determine the effect of supplementation with glycerol (G), fish oil (AP), L-arginine (AR) and L-glutamine in ewes Pelibuey during the reproductive season and the anestrus season before the manifestation of estrus, on the incidence of estrus (IE), ovulatory rate (TO), return-to-estrus rate (RE), pregnancy rate (TG) and prolificacy. At the beginning of the experiments the ewes (n=167) were synchronized to estrus with intravaginal devices containing progesterone (9 days *in situ*), and on day 7 received PGF_{2α}. Estrus was detected for four days beginning 12h post-CIDR removal. Ewes in estrus were inseminated (AI) 12h post-estrus. 45 days post AI pregnancy diagnosis was performed. In the experiment 1, which corresponds to the reproductive season on day 5, the ewes were assigned to one of eight treatments: 1) without G, AP or AR (Control n=21); 2) 100 ml G (n=21); 3) 70 ml AP (n=20); 4) 3 g AR (n=21); 5) 100 ml G + 70 ml AP (21); 6) 100 ml G + 3 g AR (21); 7) 70 ml AP + 3 g AR (21); 8) 100 ml G + 70 ml AP + 3 g AR (n=21). In the experiment 2, whit corresponds to the anestrus season on day 6, the ewes were assigned to one of four treatments: 1) without G and GLU (Control n=48); 2) 100 ml G (n=46); 3) 50 g GLU (n=46); 4) 100 ml G + 50 g GLU (n=48). No significant differences were found (P>0.05) in IE, TO, RE, TG and prolificacy. Supplementation with G, AP, AR and GLU before estrus did not affect the reproductive variables in Pelibuey ewes.

Key Words: Pelibuey, anestrus season, reproductive season, glycerol, L-arginine, oil fish, L-glutamine

I. INTRODUCCIÓN GENERAL

El inventario de ovinos de pelo en México ha aumentado y actualmente representa un porcentaje considerable del inventario ovino nacional (25%; SAGARPA, 2000), debido a su adaptación a las condiciones ambientales y su eficiencia reproductiva (Ortiz *et al.*, 2000). La eficiencia reproductiva de las hembras depende de las respuestas de los ovarios a las secreciones hipofisarias promovidas por el hipotálamo, las cuales a su vez pueden ser moduladas por el estado metabólico del animal dependiente de la nutrición (Meza-Herrera *et al.*, 2002). Una nutrición deficiente se caracteriza por un perfil endocrino bajo, tanto gonadotrópico como metabólico lo cual afecta la función reproductiva como: retraso en el inicio de la pubertad, ciclos estrales irregulares y una disminución global en la eficiencia reproductiva (Meza-Herrera *et al.*, 2005).

El éxito de las explotaciones ovinas depende, entre otros factores, lograr mejor prolificidad para obtener mayor número de corderos⁻¹ hembra⁻¹ año⁻¹, característica que está influenciada en principio por una mayor o menor tasa ovulatoria (Blache, 2003). En la producción comercial de corderos se busca incrementar la prolificidad por medio de tratamientos hormonales, programas de mejoramiento genético o mediante estrategias nutricionales; dentro de estas últimas destaca el aumento del aporte de energía o proteína a la borrega previo al empadre, práctica conocida como “alimentación focalizada”, la cual tiene la finalidad de disminuir costos en la alimentación y obtener mayores beneficios en las explotaciones. Esta estrategia busca aumentar la tasa ovulatoria, evitar pérdidas embrionarias y fetales, maximizar la sobrevivencia y desarrollo postnatal y la producción de calostro (Martin *et al.*, 2004).

Para lograr estos objetivos se necesita investigar sobre alternativas nutricionales que incidan de manera positiva en las respuestas reproductivas de las ovejas. Se han realizado investigaciones sobre el efecto de la administración de glicerol (Martínez, 2004; Méndez, 2007), el cual es un componente alcohólico de todos

los tejidos animales y vegetales (Church y Pond, 1998) es utilizado para aumentar las concentraciones de propionato ruminal, de glucosa e insulina en plasma; así como para prevenir la cetosis después del parto (Pickett *et al.*, 2003). El aceite de pescado, contiene ácidos grasos poliinsaturados, que pueden incidir de manera positiva en la reproducción de las ovejas estimulando la secreción de LH desde la pituitaria anterior, y ésta a su vez estimula el desarrollo de células luteales ováricas, pueden incrementar la circulación de colesterol un precursor de la progesterona que está asociado con mejorar la fertilidad, y pueden inhibir la producción de $\text{PGF}_{2\alpha}$ y 17β estradiol para incrementar la vida del cuerpo lúteo y mejorar la supervivencia del embrión (Staples *et al.*, 1998). La L-arginina, es un aminoácido que interviene en la conversión de L-arginina a L-citrulina, donde el oxido nítrico se libera (Siasos *et al.*, 2007) y éste participa a nivel de sistema nervioso central (SNC). El oxido nítrico 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). La L-glutamina es un aminoácido que puede favorecer la comunicación endocrina hipotálamo-hipofisaria, al ser considerada como un aminoácido excitador, el cual es uno de los principales neurotransmisores del sistema nervioso central (Meza-Herrera *et al.*, 2005), al mediar la excitación sináptica dentro del cerebro. El Glutamato es conocido como un aminoácido excitador que afecta diversos procesos fisiológicos debido a la existencia de un gran número de subtipos de receptores a glutamato en el SNC (Brann, 1995).

Por lo anterior, es importante desarrollar estrategias nutricionales focalizadas en ovejas que permitan incrementar la eficiencia reproductiva mediante la suplementación de fuentes de proteína y de precursores de glucosa a tiempos cortos, con el fin de aumentar el número de corderos por hembra parida, lo cual se reflejará en el éxito de una explotación ovina.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Situación Actual de la Ovinocultura en México

El censo ovino nacional se ha mantenido con pocos cambios en las últimas tres décadas, según cifras aportadas por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), el inventario actual es de aproximadamente de siete millones de cabezas. Este estancamiento se debe a que la mayoría de los rebaños cuentan con índices productivos y reproductivos deficientes y con poco interés de los productores en constituir una empresa económicamente redituable, sin embargo, es reconocida como una actividad importante dentro del subsector ganadero (Arteaga, 2006).

La orientación de la ovinocultura mexicana es primordialmente hacia la producción de carne, obteniéndose altos precios en pie y en canal en comparación a otras especies pecuarias. El consumo de esta carne es por un platillo típico en el centro del país llamado barbacoa (Cuellar, 2003). La demanda de carne en México para este fin es muy alta y redituable, pero la producción de carne nacional es insuficiente para cubrir esta demanda por lo que, aproximadamente el 55% de la demanda de carne es cubierta con importaciones de carne y ovinos en pie, regularmente de vientres de desecho y canales congeladas provenientes de Australia, Nueva Zelanda y Estados Unidos.

El consumo per cápita de barbacoa en 1983 fue de 305 g por habitante, incrementándose en 1993 a 837 g, posiblemente como consecuencia de una mayor oferta de barbacoa debido, al incremento de la importación de canales y animales en pie, y por otro a una mayor productividad del rebaño nacional. El consumo es cercano a los 1000 g por habitante al año (Arteaga, 2006).

La distribución geográfica del ganado ovino abarca la mayoría de los estados de la república mexicana siendo Hidalgo (1,485,000 cabezas) y Estado de México (1,005,466 cabezas) los que mayores inventarios poseen, no se descartan las zonas tropicales (Oaxaca 565 mil, y Veracruz 463 mil), zonas donde prevalecen los ovinos criollos y de Pelo (SIAP, 2009).

2.2 Patrón reproductivo en la oveja

El inicio de la actividad reproductiva en los animales domésticos está marcado por la aparición de la pubertad, que desencadena eventos endócrinos, fisiológicos y cambios de comportamiento; estableciéndose en las hembras un patrón cíclico de algunos días, denominado ciclo estral, y otro patrón anual que afecta tanto a machos como a hembras y se presenta sólo en algunas especies; comprende una época reproductiva y otra en la que los ciclos estrales están suprimidos (época de anestro, Salomón, 1990).

La oveja es un rumiante poliéstrico estacional que muestra patrones de función reproductiva determinada por ciclos. El primero es un ciclo estral que se establece cada 17 ± 2 días, tiempo en el que se producen de forma continua modificaciones en el sistema endócrino, integrado por el hipotálamo-hipófisis-gónadas y en la actividad uterina y ovárica (Viñoles, 2003; López, 2004). El segundo es un ciclo reproductivo anual, regulado por la amplitud del fotoperiodo (Arroyo *et al.*, 2006), es decir que las ovejas presentan actividad reproductiva cuando los días son más cortos, esta actividad se encuentra regulada principalmente por la variación en la secreción de melatonina como respuesta a los cambios en el fotoperiodo a lo largo del año (Chemineau, 1992).

2.3 Ciclo estral

El ciclo estral es el intervalo entre dos periodos de celo o estro (Hafez y Hafez, 2002). El celo es el período fértil o de receptividad sexual que ocurre de 24 a 48 horas antes de la ovulación (Goodman, 1994). Durante el ciclo estral el eje

hipotálamo-hipófisis-gónadas secretan hormonas en respuesta a mecanismos de estimulación e inhibición por retroalimentación y son distribuidas por el torrente sanguíneo hasta los órganos donde ejercen su acción (López, 2004).

El ciclo estral es una secuencia de eventos endócrinos regulados por el hipotálamo y su secreción de GnRH, la glándula pituitaria secreta las hormonas luteinizante (LH) y foliculoestimulante (FSH), el folículo produce hormonas esteroides e inhibina, el cuerpo lúteo (CL) secreta progesterona y oxitocina y el útero es responsable de la producción de prostaglandina ($PGF_{2\alpha}$, Rosell, 2004). Con cada evento en sucesión se inicia el cambio hormonal subsiguiente. La GnRH producida en el área preóptica (APO) estimula la secreción de LH procedente de la pituitaria anterior, la cual produce la ovulación del folículo ovulatorio y estimula la luteinización de las células remanentes foliculares. Cuando el CL se desarrolla, las concentraciones de progesterona se incrementan y permanecen elevadas durante la fase luteal (Rosell, 2004). Durante los días 11-13 del ciclo estral aumentan las prostaglandinas para inducir la luteólisis, y subsecuentemente las concentraciones de progesterona se reducen (Goodman, 1994). La luteólisis marca el inicio de la fase folicular. El decremento de los niveles de progesterona (P_4) conduce a un incremento en la frecuencia pulsátil de LH y a la estimulación del estradiol (E_2) secretado por el folículo ovulatorio para terminar con el estro y con el pico preovulatorio de LH (Bair *et al.*, 1976; Karsch *et al.*, 1980). El pico preovulatorio de LH, a su vez termina con la secreción de E_2 para inducir la ovulación y la luteinización para que pueda iniciar un nuevo ciclo estral.

2.4 Perfiles hormonales durante el ciclo estral

Los efectos en los cambios reproductivos son mediados por cambios en las hormonas ováricas o en la sensibilidad del hipotálamo-pituitaria-gónadas (El-Ella, 2006). Las hormonas que están involucradas en la regulación del ciclo estral son las siguientes: hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), secretada por el hipotálamo; hormona folículo estimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH), secretadas por la hipófisis; prolactina y oxitocina; estrógenos, inhibina y líquido

folicular de los folículos antrales del ovario; P_4 y oxitocina desde el CL, y $PF_{2\alpha}$ desde el endometrio uterino (Nalbandov, 1969; Hafez y Hafez, 2004).

El estímulo del hipotálamo para la secreción de GnRH y por consiguiente la secreción pulsátil de LH de la pituitaria anterior están involucradas en el proceso de la ovulación. Paralelamente a la caída de progesterona se incrementa la frecuencia de pulsos de LH, al tiempo que se elevan paulatinamente sus niveles basales. Finalmente se incrementan sus niveles hasta ser 20 a 80 veces mayores que los niveles basales durante un período de 6 a 12 hs, lo que se conoce como el pico de LH. El proceso ovulatorio se desencadena a partir del mismo, determinándose el estallido del folículo preovulatorio y posterior liberación del oocito. Ante cada pulso de GnRH la hipófisis responde con un pulso de LH; y el folículo responde a la LH secretando estrógenos. Los estrógenos determinan que se produzca nuevamente un nuevo pulso de LH, el que inducirá un nuevo incremento de estrógenos. A su vez, el estradiol incrementa la sensibilidad de la hipófisis a la GnRH, de forma que finalmente se produce una descarga masiva de LH: el pico de LH. Se considera que los estrógenos ejercen su efecto estimulador en ambos niveles, tanto en el hipotálamo estimulando la secreción de GnRH, como en la hipófisis estimulando directamente la secreción de LH. Finalmente, el pico de LH determina la ruptura y luteinización del folículo, de forma que caen los niveles de estrógeno. Por lo tanto, el propio folículo es el que desencadena los mecanismos que lo destruirán (Senger, 2003).

La secreción pulsátil de LH está presente en todos los estados reproductivos de la oveja, durante y después del pico preovulatorio de gonadotropinas (Rawlings y Cook, 1993). Durante la fase luteal, al aumentar los niveles de progesterona debido al crecimiento del CL, se altera la secreción pulsátil de LH y causa que el folículo dominante detenga sus funciones metabólicas y comience a regresar. Este cese de la secreción de estradiol e inhibina se produce antes de que se observe una disminución del diámetro del folículo dominante pero tiene como consecuencia el

aumento de las concentraciones de FSH que va a reclutar los folículos de la siguiente onda folicular. Por el contrario, la disminución de los niveles circulantes de progesterona al ocurrir la luteólisis hacia el final del ciclo permite el incremento de la frecuencia de los pulsos de LH. Esto estimula un mayor crecimiento del folículo dominante y un aumento de las concentraciones de estradiol, que induce los signos de celo y el pico pre ovulatorio de LH (Senger, 2003).

En ovejas ciclando, la secreción pulsátil de LH ocurre de uno a seis veces durante un período de seis horas y se incrementa fuertemente la frecuencia pulsátil de LH durante el pico preovulatorio (Goodman y Karsch, 1981). Mientras que, la FSH tiene baja amplitud pero larga duración secretada en pulsos desde los gonadotropos de la hipófisis (Van Cleeff *et al.*, 1995). El CL empieza a desarrollar y por lo tanto, las concentraciones de P_4 empiezan a elevarse durante la fase lútea. La P_4 empieza a aumentar del día 1 al 11 y disminuye por completo el día 15 antes de la ovulación (Bartlewski *et al.*, 1999). Del día 11 al 13 del ciclo estral empieza a incrementar las prostaglandinas para inducir la luteólisis y como consecuencia bajan las concentraciones de P_4 (Goodman, 1994; Bartlewski *et al.*, 1999). La luteólisis marca el comienzo de la fase folicular. La disminución de los niveles de P_4 dan paso a incrementar la frecuencia pulsátil de LH y la estimulación de la secreción de E_2 desde el folículo preovulatorio para dar paso al pico preovulatorio de LH (Karsch *et al.*, 1980; Evans *et al.*, 2000). El E_2 tiene su acción a nivel hipotálamo, donde puede ser positiva o negativa; esta última es más marcada en la época de anestro porque tiene la capacidad de disminuir la frecuencia pulsátil de GnRH (Goodman *et al.*, 1982). El incremento de la secreción pulsátil de LH termina la secreción de E_2 ya que provoca la ovulación y luteinización, iniciando un nuevo ciclo estral (Hafez y Hafez, 2004).

2.5 Efecto de la nutrición en la estacionalidad de la oveja

La oveja presenta patrones de estacionalidad reproductiva, la cual los presenta de acuerdo a sus necesidades fisiológicas, de tal manera que los nacimientos ocurren en óptimas condiciones del año con abundancia de pastos y temperatura ambiental confortable. (Forcada y Abecia, 1992).

La actividad sexual de la oveja es fuertemente influenciada por el fotoperiodo, el cual es el factor ambiental de la estacionalidad de la reproducción. El origen de la raza determina el comportamiento reproductivo estacional, por lo tanto, las razas originarias de latitudes altas ($>35^\circ$) presentan una marcada estacionalidad reproductiva y los ovinos de origen mediterráneo o ecuatorial, expresan estacionalidad reproductiva reducida y en ocasiones inexistente (Arroyo, 2011; Porras *et al.*, 2003).

Las modificaciones de la actividad hipotálamo-pituitaria en la secreción pulsátil de GnRH y LH en el control de los cambios estacionales del comportamiento reproductivo ovino, refleja diferencias en la sensibilidad de la retroalimentación negativa del estradiol (Karsch *et al.*, 1993). La pérdida de respuesta a un estímulo fotoperiódico continuado (fotorrefractoriedad) tanto estimulador (días cortos) como inhibitorio (días largos), suponen la existencia de un ritmo endógeno de la actividad reproductiva estacional (Karsch *et al.*, 1989; Robinson y Karsch, 1984). En este contexto, el anestro estacional, bajo condiciones de un fotoperiodo natural, sería producido y mantenido por la acción secuencial de la fotorrefractoriedad al fotoperiodo estimulante de días cortos (Kao *et al.*, 1992).

La glándula pineal está directamente involucrada en la percepción del fotoperiodo en las ovejas, la retina recibe información del fotoperiodo, la cual muestra múltiples pasos neurales de la glándula pineal, donde el mensaje modula el ritmo de secreción de melatonina. La duración de la secreción difiere entre días largos y cortos, porque la melatonina es secretada en mayor concentración durante la

noche. La variación en la duración de la secreción de melatonina es transformada neuralmente y regulada la secreción de GnRH (Karsch *et al.*, 1984).

Las variaciones en la secreción de esta hormona reflejan el fotoperiodo, haciendo de transductor de la información fotoperiódica a una respuesta hormonal, transmitida al eje hipotálamo-hipófisis-gónada. La melatonina transmite la información del fotoperiodo en el área premamilar hipotalámica (Malpaux *et al.*, 1998) regulando la secreción de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH), que a su vez regula la secreción de las dos hormonas gonadotropas producidas en la hipófisis, la hormona luteinizante (LH) y la hormona folículo estimulante (FSH) (Clarke, 1988). El principal mecanismo de regulación de la estacionalidad por parte de la melatonina, se efectúa mediante una modulación, a nivel hipotalámico, de su sensibilidad a la retroalimentación negativa realizada por los esteroides gonadales. El aumento de las horas de oscuridad durante el fotoperiodo de días cortos, aumenta la duración de la secreción nocturna de melatonina, disminuyendo el umbral de sensibilidad a los esteroides gonadales (estradiol en la hembra y testosterona en el macho) que induce un incremento de la frecuencia de pulsos de GnRH, lo que aumenta la frecuencia de pulsos de LH. La disminución en la duración de secreción de melatonina durante los días largos determina un incremento de esta sensibilidad a la acción inhibitoria de los esteroides gonadales, estableciéndose una inhibición de la actividad reproductiva (Malpaux *et al.*, 1987).

2.6 Desarrollo folicular

Independientemente de su estado fisiológico, los ovarios de todas las especies domésticas contienen una gran cantidad de folículos primordiales, y una población menor de folículos preantrales (100 a 1000) y antrales (50 a 300), los cuales pueden encontrarse en cualquier región de la corteza ovárica (Driancourt, 2001).

El plan nutricional de un animal influye en el número de folículos que llegan al estadio final de su crecimiento. Los folículos que tienen oportunidad de llegar a esta fase de crecimiento, tienen dos alternativas: podrían ser degenerados por el proceso llamado atresia o éstos podría ovular (Hsueh *et al.*, 1994). La tasa de ovulación en la oveja es determinada por el número de folículos que escapan de la atresia.

La restricción alimenticia tiene efecto en el desarrollo folicular, tal es el caso cuando se suplementa con bajo contenido de energía, se reduce el tamaño y persistencia del folículo dominante (Boland *et al.*, 2001). Downing y Scaramuzzi (1991) demostraron que el efecto *flushing* puede estar relacionado con la reducción en la atresia de folículos que se encuentran en los estados finales de crecimiento y desarrollo, ya que, un folículo preovulatorio es más susceptible a la atresia en los días 9-13 del ciclo estral que es cuando el *flushing* incrementaría la tasa de ovulación.

Los estímulos de la nutrición en el crecimiento folicular, podrían estar involucradas acciones directas a nivel ovario por la glucosa y hormonas metabólicas, como los factores de crecimiento parecidos a la insulina I (IGF-I) y leptina, proteínas transportadoras de glucosa y receptores específicos de estas hormonas que están presentes en los folículos (Muñoz-Gutiérrez *et al.*, 2004). Además estas hormonas pueden aumentar después de una suplementación corta ayudando a disminuir la apoptosis folicular (Scaramuzzi *et al.*, 1999), por lo que el estatus de desarrollo folicular al tiempo de máxima concentración de glucosa y hormonas metabólicas pueden ser uno de los factores que determinen el incremento o disminución de la tasa ovulatoria (Viñoles *et al.*, 2005).

El desarrollo del folículo antral o terciario, se caracteriza por tener una cavidad llamada antro, el líquido dentro del antro se llama líquido folicular. Cuando el folículo antral se convierte en folículo dominante preovulatorio puede ser llamado

folículo de Graaf. Algunos folículos antrales pueden observarse a simple vista en la superficie de los ovarios (Monniaux *et al.*, 1996). Los folículos antrales consisten de tres capas de células distintas. Esas capas son la teca externa, la teca interna y la capa de células de la granulosa. La teca externa es tejido conectivo que rodea completamente y da soporte al folículo, la capa que se encuentra justo debajo es la teca interna. Las células de la teca interna son las responsables de la producción de andrógenos bajo la influencia de la LH. Abajo de la teca interna se encuentra la capa de células de la granulosa, a veces llamada membrana granulosa, estas células producen estrógenos, inhibina, líquido folicular y receptores para FSH (Monniaux *et al.*, 1996).

En general, el desarrollo folicular involucra dos fases. En la primera los folículos, de más de 2 mm en la oveja, crecen lentamente y la tasa de crecimiento folicular está estrechamente relacionada con la tasa de proliferación de las células de la granulosa. Esta fase no es estrictamente dependiente de gonadotropinas. La segunda fase, el crecimiento folicular es rápido debido esencialmente al agrandamiento del antro. Además, el desarrollo folicular terminal se caracteriza por el incremento importante en la capacidad esteroidogénica y la capacidad de respuesta de las células de la granulosa a FSH y LH, esta fase es estrictamente dependiente del aporte de gonadotropinas (Webb *et al.*, 1999).

2.7 Oleadas foliculares

La utilización de la ultrasonografía ha permitido el seguimiento diario de la dinámica folicular de forma atraumática, permitiendo un gran avance en el conocimiento de la fisiología ovárica de la oveja (Rubianes, 2000). Actualmente, se sabe que el desarrollo folicular en la mayoría de las especies domésticas sigue un patrón de crecimiento en oleadas que se refiere a un crecimiento periódico y sincronizado de un grupo de folículos (Ginther, 2000). Posteriormente, los folículos antrales que crecen de 3 a 5 mm de diámetro presentan oleadas. Un

intervalo de 2 a 5 oleadas foliculares ocurren en cada ciclo estral, pero el patrón predominante es de 3 oleadas que emergen respectivamente alrededor de los días 1, 6 y 11 del ciclo estral ovino. Algunos autores encuentran una cuarta oleada y en este caso la oleada 3 emerge más tempranamente y la oleada 4 emerge el día 14 (Viñoles *et al.*, 2001). Cada oleada folicular le precede un incremento en la secreción de FSH (Webb *et al.*, 2004).

Algunas características más frecuentes observadas en las oleadas foliculares son:

1. El folículo mayor de la oleada 1 es más grande que el folículo de la oleada 2,
2. La tasa de crecimiento desde el día de emergencia (primer día con un diámetro de 3 mm) y el día de máximo diámetro es de alrededor de 1 mm día⁻¹,
3. En promedio de 1.2 a 1.5 folículos alcanzan 5 mm o más de diámetro en cada oleada, pero esto depende de la raza,
4. El intervalo de la oleada 1 y la oleada 2 es más largo que entre la oleada 2 y la oleada 3,
5. Los folículos que no alcanzan más de 3 mm de diámetro emergen y regresan de un modo más continuo (Rubianes, 2000).

Durante el desarrollo de las oleadas foliculares los folículos van adquiriendo características que les permitan seguir creciendo bajo un ambiente endócrino cambiante, por lo que se han dividido las oleadas foliculares en 4 etapas: reclutamiento, selección, dominancia y atresia folicular. El reclutamiento, es un proceso por el que, bajo la acción de la FSH, un conjunto de folículos preantrales tempranos comienzan a crecer en un medio con suficiente soporte gonadotrópico, que les permita llegar a la ovulación (Rubianes, 2000). Algunos de los folículos reclutados sufren atresia en poco tiempo. Después del reclutamiento, algunos de los folículos que no sufrieron atresia son seleccionados. La selección, es un proceso por el cual algunos folículos no sufren atresia y adquieren la capacidad para

alcanzar la ovulación. Los folículos seleccionados continúan su desarrollo y tienen dos caminos posibles convertirse en folículos dominantes o sufrir atresia. Conforme continúan creciendo los folículos seleccionados hacia la dominancia siguen produciendo mayor cantidad de estradiol e inhibina, la cual inhibe la secreción de FSH por la hipófisis anterior. La dominancia, es el medio por el cual los folículos seleccionados inhiben el reclutamiento de una nueva serie de folículos antrales de la cohorte de folículos reclutados y seleccionados. Esta inhibición parece ser ejercida por la acción de la inhibina por parte del folículo dominante y por una reducción en el aporte sanguíneo de algunos folículos (Bartlewski *et al.*, 2000).

Al continuar su madurez los folículos dependen de factores como la nutrición que puede influir en: el reclutamiento de folículos antrales, en una mayor tasa ovulatoria (Gong *et al.*, 2002), en mejor desarrollo y calidad del ovocito y la producción de hormonas metabólicas que están directamente correlacionadas con las gonadotropinas que regulan los cambios en la función ovárica (Webb *et al.*, 2004).

La influencia nutricional en la foliculogénesis y las oleadas foliculares presentan perturbaciones fisiológicas en el sistema de retroalimentación negativo, por lo que la nutrición podría afectar la duración de la oleada folicular, porque al suplementar podría disminuir la secreción de estradiol desde el folículo dominante, permitiendo dominar más tiempo (Scaramuzzi *et al.*, 2006).

2.8 Tasa ovulatoria

La nutrición es uno de los factores más importantes que afecta la tasa de ovulación (Viñoles *et al.*, 2005). La práctica alimenticia conocida como *flushing* incrementa la incidencia de ovulaciones múltiples (El-Ella, 2006), debido a una mejor nutrición del animal con un tiempo relacionado con estos procesos reproductivos o calidad de los suplementos alimenticios, con lo cual se aumenta la entrada de nutrientes a

nivel celular en el organismo, que estimulan la secreción de gonadotropinas o bien actúan directamente en el ovario, aumentando la producción de progesterona (Smith, 1988).

Coop (1996) demostró que el efecto *flushing* sobre la tasa ovulatoria depende de un efecto estático relacionado con el efecto positivo del peso vivo y el efecto dinámico ligado a la rápida mejora de la condición corporal. Al estudiar el efecto estático encontraron que la tasa ovulatoria se incrementó, asociándose a un incremento de FSH y a la disminución de las concentraciones de estradiol durante la fase folicular, en ovejas con alta condición corporal, por lo que se infiere que la disminución de las concentraciones de estradiol inhiben a la FSH, permitiendo que los folículos dependan más de las gonadotropinas durante su crecimiento y ser seleccionados para ovular (Viñoles *et al.*, 2002).

Las alteraciones anteriores de la tasa ovulatoria pueden estar relacionadas con la entrada de glucosa a las células en animales con una alta disponibilidad de energía y proteína (Boland *et al.*, 2001). Por lo tanto, estos resultados implican a la glucosa en el control de la función ovárica y dado que los niveles de glucosa están regulados por la insulina, también sugieren un papel de esta hormona metabólica en el mecanismo de los efectos nutricionales que afectan el crecimiento folicular en ovejas (O`Callaghan y Boland, 1999).

Los esqueletos carbonados de los aminoácidos, son factores de crecimiento parecidos a la insulina 1 (IGF-1) que pueden modular la tasa ovulatoria independientemente de las concentraciones plasmáticas de la FSH por efecto directo en el ovario sobre el desarrollo folicular (Galvis y Correa, 2002).

Robinson (1996) mencionó que las alteraciones en la tasa ovulatoria ocurren cuando la cohorte de folículos depende de gonadotropinas, nutrientes (glucosa, aminoácidos), hormonas metabólicas (insulina, hormonas de crecimiento, IGFs y

proteínas) y de la nutrición que puede alterar la concentración de las gonadotropinas hacia los folículos y por consiguiente alterar la respuesta ovulatoria. Por lo que se hipotetiza que la suplementación corta puede ser efectiva del día 9 al 13 del ciclo estral ó 6 días antes de la luteólisis, tiempo donde emergen las oleadas ovulatorias (Viñoles, 2000).

Los cambios endócrinos a través del consumo de alimento también pueden afectar la tasa ovulatoria, lo cual es muy complejo porque los niveles de FSH, LH y prolactina están también influidos por el consumo de alimento durante la fase folicular del ciclo estral, por lo que infieren que el nivel de consumo de alimento tiene efecto sólo en los estados de desarrollo folicular, y por consiguiente la proporción de folículos que ovularán (Rhind *et al.*, 1985).

Por lo que se deduce que los cambios nutricionales en ovejas durante el periodo de cubrición son responsables, al menos en parte, de los cambios en la secreción de gonadotropinas y en última instancia afectan al crecimiento folicular y la tasa ovulatoria.

2.9 Influencia de la nutrición en la reproducción

La nutrición es uno de los principales factores que influyen en la función y eficiencia reproductiva en rumiantes, por lo que una deficiencia nutricional ejerce un efecto detrimental en la misma (Dunn y Moss, 1992; Viñoles, 2005); tales como retrasar la pubertad (Day *et al.*, 1986), prolongar el anestro (Imakawa *et al.*, 1986), y cesar los ciclos estrales en ovejas durante la época reproductiva (Randel, 1990).

Los posibles sitios donde una nutrición deficiente puede ejercer efectos negativos en la función reproductiva son citados por Gutiérrez (2001):

1. En el hipotálamo y glándula pituitaria, alterando la liberación de gonadotropinas con el subsecuente efecto de retardar la ovulación y causar un desarrollo folicular anormal.
2. Directamente en el ovario donde tanto los patrones de crecimiento folicular como la función lútea pueden verse afectados.
3. Altera el desarrollo folicular donde, indirectamente, la calidad del ovocito puede verse reducida con el subsecuente efecto negativo a la supervivencia embrionaria.
4. Provoca un ambiente uterino inadecuado que afecta negativamente el desarrollo y supervivencia del embrión.

Los efectos negativos anteriores tienen efecto principalmente a nivel ovario y en el SNC que emiten información de acuerdo al estado nutricional por medio de señales neuroendócrinas que controlan la actividad reproductiva (Schillo, 1992).

La deficiencia nutricional, también tiene efecto en el desarrollo embrionario los cuales son extremadamente sensibles a cambios en el estado nutricional del animal (Robinson, 1990). Por consiguiente, la desnutrición como la sobrealimentación durante las primeras semanas después de la fertilización, provocan una degradación del ambiente uterino debido a un aumento en el metabolismo de progesterona (Martin, 2005).

2.10 Influencia de la energía en la reproducción

Un balance energético negativo en la reproducción tiene efecto a nivel hipotálamo-pituitaria y se caracteriza por hipoglucemia, hipoinsulinemia, disminuye los niveles de IGFs en plasma y aumenta la concentración de hormona de crecimiento, cambios que están asociados con la inhibición de la secreción

pulsátil de GnRH, anovulación y anestro en las hembras. Este conocimiento indica que el balance energético negativo tiene efectos directos a nivel ovario en la oveja, independientemente de los efectos de la interacción hipotálamo-pituitaria (Lozada *et al.*, 2003; Kiyama *et al.*, 2004).

El balance energético positivo tiende a aumentar las concentraciones de leptina, insulina y glucosa en sangre; estos cambios aparentemente afectan directamente el ovario y están asociados con un incremento en la foliculogénesis y tasa de ovulación en la oveja. Además, está asociado con alteraciones en el metabolismo hepático de esteroides, que pueden ayudar a las modificaciones de la retroalimentación negativa entre el ovario y el hipotálamo-pituitaria aumentando la foliculogénesis (Scaramuzzi *et al.*, 2006). Este efecto nutricional se puede presentar de tres formas en las ovejas: el efecto agudo, muestra ausencia de cambios de peso, el efecto dinámico, está asociado con un incremento en el peso corporal y el efecto estático está asociado con elevado peso corporal (Scaramuzzi *et al.*, 2006).

2.11 Lípidos

Los componentes lipídicos cualitativamente y cuantitativamente más importantes son los triglicéridos o triacilgliceroles. Estos compuestos son ésteres de glicerol con ácidos grasos que tienen un gran contenido energético y forman parte de todos los aceites y grasas que se conocen. El tipo de ácidos grasos y la posición en la cual se esterifican con el glicerol determinan las características de los triglicéridos (Murray *et al.*, 2001).

Los triglicéridos son moléculas apolares, hidrofóbicas, prácticamente insolubles en agua que tienen dos ventajas significativas sobre polisacáridos tales como el glucógeno y el almidón: los átomos de carbono de los ácidos grasos están más reducidos que los átomos de carbono de los azúcares, por lo que la oxidación de

los triglicéridos proporcionan más del doble de energía, gramo por gramo, que los glúcidos, y puesto que los triglicéridos son hidrofóbicos no están hidratados y por lo tanto el organismo que transporta energía en forma de grasa no ha de transportar el peso adicional del agua de hidratación asociada con los polisacáridos almacenados (David *et al.*, 2000; Lehninger *et al.*, 1993). Además, presentan un incremento calórico bajo, con una densidad alta en energía, la cual es utilizada con alta eficiencia y por consiguiente, son ingredientes ideales durante periodos de estrés calórico.

2.12 Funciones de los lípidos

Las funciones de los lípidos pueden enumerarse de modo global de la siguiente manera (Church y Pond, 1998):

1. Proporcionan energía para el mantenimiento normal y las funciones relacionadas con la producción,
2. Constituyen una fuente de ácidos grasos esenciales,
3. Funcionan como medio de transporte de las vitaminas liposolubles, y
4. Son constituyentes integrales de las membranas celulares.

2.13 Mecanismos de acción de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs)

Al suplementar PUFAs, se mejora la tasa de concepción. Los PUFAs pueden cambiar los niveles de glucosa para estimular la secreción de LH desde la pituitaria anterior, la cual estimula el desarrollo de células luteales ováricas; pueden incrementar la circulación de colesterol, un precursor de la progesterona que está asociado con la mejora de la fertilidad; pueden inhibir la producción de $\text{PGF}_{2\alpha}$ y $17\text{-}\beta$ estradiol para incrementar la vida del cuerpo lúteo y mejorar la supervivencia del embrión (Staples *et al.*, 1998).

2.14 Efecto de la suplementación de ácidos grasos en la reproducción

El inadecuado consumo de energía y la pobre condición corporal pueden afectar negativamente la función reproductiva en los sistemas de producción animal (Staples *et al.*, 1998). Para hacer alusión del potencial de los lípidos se han investigado los cambios del desarrollo folicular y uterino, perfiles hormonales, función del cerebro y desarrollo embrionario (Funston, 2004). Sin embargo, los resultados con la suplementación de lípidos son inconsistentes, debido a que existe una gran variedad de grasas y diferentes tasas de biohidrogenación de las mismas, lo cual dificulta formular una teoría general para describir su acción.

El uso de lípidos es frecuentemente utilizado para incrementar la densidad energética de la dieta, lo que podría ayudar a incrementar el consumo de energía y mejorar el estatus energético del animal, reflejándose de manera positiva en el estatus hormonal que interviene en el comportamiento reproductivo de los animales, en el aumento y tamaño de los folículos ováricos y preovulatorios (Lucy *et al.*, 1993; Funston y Filler, 2002; Robinson *et al.*, 2002), cuerpo lúteo y precursores que sintetizan hormonas como los esteroides ováricos, insulina, hormona de crecimiento y prostaglandinas (Williams y Stanko, 1999).

Previos estudios en vacas productoras de leche muestran que la suplementación con lípidos pueden tener efectos benéficos en la función reproductiva tales como desencadenar la actividad ovárica, manifestándose en el crecimiento y desarrollo folicular (Thomas *et al.*, 1997), lo que da paso a tener mayor calidad de ovocitos, cuerpos lúteos y mayor tasa de preñez (Boland *et al.*, 2001).

2.15 Suplementación de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) en rumiantes

Los PUFAs pueden influenciar en procesos reproductivos a través de una gran variedad de mecanismos, algunos de ellos son: crecimiento, maduración del ovocito, fungir como precursores de prostaglandinas y hormonas esteroideas,

modular la expresión de las enzimas clave para el metabolismo de las prostaglandinas, visión y desarrollo cerebral y como fuente de energía durante la implantación (Wathes *et al.*, 2007).

Hay evidencias que indican que los PUFAs pueden influir de manera positiva en el crecimiento folicular ovárico por el aumento de insulina a través de sus receptores o indirectamente por la producción de IGF-I en las células de la granulosa (Yoshimura *et al.*, 1994); en la función lútea y en el comportamiento reproductivo postparto (Williams y Stanko, 2000). Además, los PUFAs afectan la producción de prostaglandinas por su acción como sustrato, ciclooxigenación y por alterar la actividad o concentración celular de varias enzimas. La proporción de diferentes PUFAs en la dieta alteran la composición de la membrana celular y ésta comienza a ser cuantitativamente significativa porque el precursor de cada grupo de prostaglandinas compite por el mismo sistema enzimático para su metabolismo (Wathes *et al.*, 2007).

La suplementación de PUFAs aumentó el número de cuerpos lúteos en ovejas Pelibuey, por lo que modificó la secreción total de progesterona por medio de una mayor disponibilidad de colesterol y otros precursores de hormonas esteroides para el tejido lúteo, permitiendo un mejor desarrollo de los embriones durante los primeros días (estado de mórula; Camacho *et al.*, 2008), esto está relacionado con el estudio de Cheng *et al.* (2001) quienes encontraron que la adición de ácidos grasos poliinsaturados en la dieta de rumiantes, puede inhibir la síntesis de prostaglandina endometrial, lo que puede retrasar la lisis del cuerpo lúteo extendiendo las posibilidades de disminuir las muertes embrionarias. En el mismo sentido otros autores reportan que aumentó el número de ovocitos y el diámetro de los folículos preovulatorios en ovejas ciclando normalmente (Kuran *et al.*, 1999).

En específico, los ácidos grasos esenciales de la serie n3 y n6, inducen cambios en la foliculogénesis en vacas productoras de leche, mostrando un incremento en el número y tamaño del folículo dominante o preovulatorio y en las concentraciones de algunas hormonas esteroideas, por lo que se concluye que estos ácidos ejercen cambios directos e indirectos en la síntesis de esteroides ováricos (Wathes *et al.*, 2007).

Los PUFAs involucrados en las funciones reproductivas de los animales se pueden obtener de semillas de oleaginosas en donde predomina el ácido linoleico, y de los forrajes donde predomina el ácido linolénico (Palmquist y Jenkins, 1980) y de subproductos de origen animal como el aceite de pescado en donde predominan los ácidos grasos eicosapentanoíco (EPA) y docosahexapentanoíco (DHA; Cheng *et al.*, 2001).

Los ácidos grasos linoleico y EPA (encontrados en la harina de pescado) proveen inhibidores de la enzima ciclooxigenasa en el tejido endometrial de vacas productoras de leche. Como resultado de la secreción endometrial de prostaglandinas se pueden reducir, tal potencial se muestra en disminuir las muertes embrionarias y disminuir la sensibilidad del cuerpo lúteo (Staples *et al.*, 1998).

Al suplementar aceite de pescado protegido a nivel ruminal a vacas productoras de leche, cambio la composición de ácidos grasos en los componentes foliculares e influyó en el número y calidad de los ovocitos (Zeron *et al.*, 2002), así como también se mejoró la fertilidad y disminuyeron los abortos (Wathes *et al.*, 2007).

Por otra parte, la inclusión de harina de pescado a la dieta en vacas lactando mejoraron la tasa de concepción, lo cual esta aunado con la disminución o represión de $PGF_{2\alpha}$ por medio de los ácidos presentes en la harina de pescado (EPA y DHA, Mattos *et al.*, 2000). Estos ácidos inhiben la secreción de prostaglandinas a

nivel uterino, lo cual es benéfico durante la preñez para reducir las muertes embrionarias y por consiguiente, mejorar la tasa de preñez (Mattos *et al.*, 2003).

La base fisiológica que puede explicar la acción de los ácidos grasos linoleico, EPA y DHA, en el comportamiento reproductivo animal puede recaer en la conversión del ácido araquidónico a prostaglandinas (Staples *et al.*, 2002).

2.16 Efecto de la suplementación de los ácidos EPA y DHA en la reproducción

El SNC es caracterizado por tener alto contenido de DHA, el cual es particularmente enriquecido en aminofosfolípidos, etanolamina y sérina fosfoglicéridos. Este y otros ácidos poliinsaturados son requeridos para el buen funcionamiento del cerebro. Una de las principales funciones del DHA está relacionado con los procesos cognoscitivos, actividad de algunas enzimas, señales neurales y activación de genes a nivel cerebro que ayudan a la estabilización de axones y dendritas, cambia las formas celulares, polaridad, plasticidad neural lo que en conjunto llevan a cabo un mejor comportamiento mental (Klara *et al.*, 2002).

Al administrar una emulsión de aceite de pescado a ovejas, la cual contenía 30% de EPA y 20% de DHA bloquearon una betametasona provocando una disminución de $PGF_{2\alpha}$ (Baguma-Nibasheka *et al.*, 1999). La reducción de $PGF_{2\alpha}$ se debe a la inhibición del precursor del ácido araquidónico, debido al incremento de la concentración de ácidos grasos que compiten con el ácido araquidónico y por la actividad o inhibición de prostaglandina endoperoxidasa sintasa (Mattos *et al.*, 2003).

Al proporcionar EPA se presentó la inhibición de la síntesis de $PGF_{2\alpha}$ en el útero por la competencia con algunas enzimas, la enzima prostaglandina endoperoxidasa sintasa (PGHS), se requiere para la conversión del ácido araquidónico a $PGF_{2\alpha}$

(Mattos *et al.*, 2004). Sin embargo, DHA no es un sustrato para PGHS, es un fuerte inhibidor para la actividad de esta enzima. Por lo que, cuando se consumen ambos ácidos (EPA y DHA), la conversión del ácido graso araquidónico a $\text{PGF}_{2\alpha}$ puede reducirse, lo que incrementaría la sobrevivencia del nuevo embrión (Staples *et al.*, 2002).

Estudios con células endometriales bovinas incubadas, con aceite de pescado, el cual contenía 36% de EPA y 28% de DHA, se llegó a la hipótesis que al suplementar el aceite de pescado 21 días antes del parto podría incrementar la proporción de estos ácidos en el tejido uterino y reducir la síntesis de $\text{PGF}_{2\alpha}$ en vacas productoras de leche (Staples *et al.*, 2002).

El ácido araquidónico es también precursor de la prostaglandina E_2 , esta prostaglandina tiene efecto opuesto a la $\text{PGF}_{2\alpha}$. La prostaglandina E_2 es un vasodilatador e incrementa el flujo sanguíneo. En resumen ambas prostaglandinas están involucradas en el proceso de la ovulación; PGE_2 incrementa el flujo sanguíneo hacia los folículos dominantes y la $\text{PGF}_{2\alpha}$ incrementa la concentración de tejido ovárico, ambos eventos son necesarios para la ovulación (Elliot, 2004).

2.17 Suplementación de grasa y síntesis de hormonas

Algunos PUFAs pueden servir como sustrato para la biosíntesis e inhibidores de las prostaglandinas, las cuales tienen una función importante en el restablecimiento del ciclo estral, previenen la regresión de cuerpo lúteo, ayudan a la involución uterina, luteólisis e incrementan las muertes embrionarias (Funston, 2004). En mamíferos, el ácido araquidónico es el principal sustrato para la síntesis de prostaglandinas y el ácido linoleico puede ser desaturado y elongado para formar EPA, el cual es precursor intermediario para la serie 3 de prostaglandinas (Staples *et al.*, 1998, Mattos *et al.*, 2000). Estudios realizados por Thatcher *et al.* (1994) han mostrado que el ácido linoleico es un inhibidor de la síntesis de $\text{PGF}_{2\alpha}$ que son

producidas en el endometrio. Esta inhibición ocurre por la competencia entre el ácido araquidónico y el ácido linoleico por estar vinculados con la enzima ciclooxigenasa la cual tiene implicaciones en el control de la luteólisis, ovulación y fertilidad (Cheng *et al.*, 2001). Al suplementar aceite de pescado durante la concepción, disminuyen las concentraciones de prostaglandinas por lo que se beneficia la vida del cuerpo lúteo y por lo tanto la supervivencia embrionaria (Mattos *et al.*, 2000).

Se ha observado que al suplementar ácidos grasos poliinsaturados en la dieta reduce la concentración de progesterona en sangre durante la fase lútea (Robinson *et al.*, 2002), la cual prepara al útero para la implantación del embrión y a mantener la preñez (Staples y Thatcher, 1999). Esta disminución de progesterona probablemente es debido a un efecto secundario por la reducción de la síntesis de prostaglandina por aumento de los precursores derivados del colesterol (Martínez y Sánchez, 1999). El incremento de progesterona en sangre aumenta la vida del cuerpo lúteo, mejorando la tasa de concepción y fertilidad (Staples *et al.*, 1998). La ovulación de folículos grandes puede formar un cuerpo lúteo grande con un incremento en la capacidad esteroidogénica y producir una mayor concentración de progesterona (Funston, 2004, Espinoza *et al.*, 1995).

Otro efecto en la suplementación de grasa a rumiantes es el aumento de la concentración de colesterol en sangre, ovario y en el fluido folicular (Staples *et al.*, 1998, Williams y Stanko, 2000), el cual es el principal sustrato para la síntesis de progesterona en la fase lútea (Grummer y Carroll, 1991). Wehrman y Williams (1989) encontraron que la suplementación con 8% de extracto etéreo a vacas recién paridas y vaquillas se elevaron los niveles de colesterol y de lipoproteínas de alta densidad tanto en el suero sanguíneo como en el líquido folicular. Hightshoe *et al.* (1991) observaron mayores niveles séricos de colesterol en vacas suplementadas con grasa protegida a nivel ruminal durante el período postparto, así como también en ovejas Pelibuey (Espinoza *et al.*, 1998).

Cuando se agrega grasa en la dieta los resultados son muy variables con los niveles de insulina; en algunos estudios este metabolito disminuyó y en otros aumentó (Staples *et al.*, 1998). Cuando aumenta insulina ayuda al desarrollo folicular (Funston y Filley, 2002) mientras que cuando disminuye podría aumentar la síntesis de insulina a partir de otros tejidos del cuerpo, incluyendo los del tracto reproductivo los cuales podrían estimular el crecimiento folicular (Williams y Stanko, 1999).

Hay evidencias que indican que la dieta maternal que reciben los corderos durante la preñez, puede afectar la relación de sexos al nacimiento en corderos. Mark *et al.* (2008) suplementaron PUFAs protegidos a nivel ruminal a ovejas antes de la concepción y obtuvieron más machos que hembras.

2.18 Síntesis de lípidos en el rumen

La dieta consumida por los rumiantes, pasa a través de cuatro compartimentos del sistema digestivo, poniendo énfasis en el rumen donde se produce la fermentación. Grandes cantidades de bacterias, protozoarios y hongos en el rumen fermentan el alimento, secretando productos que son utilizados por el animal. La transformación de los lípidos incluye la lipólisis para producir ácidos grasos libres a partir de lípidos complejos, y la biohidrogenación para convertir ácidos grasos insaturados a ácidos grasos saturados (Jenkis y Palmquist, 1984).

Los cambios de los ácidos grasos volátiles ocurren en respuesta al incremento de la grasa en la dieta y la proporción de dichos cambios dependen del grado de saturación de la grasa consumida (Williams y Stanko, 2000), tal es el caso al consumir ácidos grasos poliinsaturados incrementa la producción de propionato ruminal y disminuye la proporción de acetato:propionato.

2.19 Hidrólisis o lipólisis de los triacilgliceroles

Cuando la grasa entra al rumen, el primer paso en el metabolismo de los lípidos es la hidrólisis de los enlaces ester encontrados en los triglicéridos, fosfolípidos y glucolípidos, con el objetivo de transformarlos en ácidos grasos y glicerol. La hidrólisis de los lípidos de la dieta es principalmente por bacterias y con poca participación de protozoarios, hongos y lipasas. La hidrólisis de la grasa o aceite es extracelular, y el glicerol y los azúcares son liberados para ser metabolizados por las bacterias del rumen. La hidrólisis en el rumen se realiza por la bacteria *Anaerovibrio lipolítica* la cual hidroliza triglicéridos y *Butyrivibrio fibrisolvens* la cual hidroliza fosfolípidos y glucolípidos (Jenkins, 1993; Bauman *et al.*, 2003;).

Los ácidos grasos no esterificados son llevados por la sangre a través del tejido adiposo y son transportados por tejidos hepáticos y no hepáticos. En el hígado pueden ocurrir tres acciones: 1) obtener los ácidos grasos para producir energía, 2) oxidar parcialmente los ácidos grasos para tener energía, pero también para producir cuerpos cetónicos como el ácido β -hidroxi butirato que sirve como combustible para otros tejidos, 3) reconvertir a triglicéridos (Drackley, 1999).

2.20 β -Oxidación de los ácidos grasos

Los ácidos grasos procedentes de la hidrólisis de los triglicéridos se acumulan en el citoplasma celular, mientras las enzimas de la oxidación de dichos ácidos se encuentran en la matriz mitocondrial. El problema se resuelve mediante la activación de los ácidos grasos y su transporte activo al interior de la mitocondria. En primer lugar, el ácido graso se transforma en acetil-CoA sintasa. Posteriormente se produce una transesterificación del grupo acilo de este sustrato a la carnitina por la carnitina Acil transferasa I, de manera que el producto formado, acil-carnitina, se une al transportador, acil-carnitina por la membrana mitocondrial hacia el interior de la mitocondria; donde tiene lugar la liberación del ácido graso de nuevo en forma de Acetil-CoA, por la carnitina acil tranferasa II (Lehninger *et al.*, 1993).

En el interior de la mitocondria la oxidación del ácido graso se realiza en tres fases, la primera fase se denomina β oxidación, y consiste en la eliminación oxidativa de unidades sucesivas de dos átomos de carbono en forma de acetil-CoA a partir del extremo del carboxilo de la cadena del ácido graso. En la segunda fase de la oxidación, los residuos acetilo de la acetil-CoA se oxidan a CO_2 por vía del ciclo del ácido cítrico. Las dos primeras fases de oxidación de los ácidos grasos reducen los transportadores electrónicos a NADH y FADH_2 , en la tercera fase donan sus electrones a la cadena transportadora mitocondrial donde se forma ATP. De este modo la energía liberada por la oxidación de los ácidos grasos se conserva en moléculas de ATP (Lehninger, 1993).

Los peroxisomas también contienen enzimas capaces de oxidar los ácidos grasos hasta acetil-CoA. La única diferencia significativa radica en la producción de FADH_2 , que interacciona directamente con una molécula de oxígeno para producir H_2O_2 . Esta molécula es muy reactiva, tiene propiedades oxidativas y se metaboliza rápidamente por la catalasa en H_2O y O_2 . Por lo tanto, en los peroxisomas, la energía se conserva en forma de ATP, si no que se disipa en forma de calor. La oxidación peroxisomal es fundamentalmente de ácidos grasos de corta y mediana cadena. Un nivel elevado en la dieta produce un aumento de la síntesis de enzimas de la β oxidación peroxisómica en el hígado de los mamíferos. El acetato producido por la oxidación de los ácidos grasos se exporta al exterior de los peroxisomas (García Muriana, 2002; Lehninger *et al.*, 1993).

Las moléculas de acetil-CoA procedentes de la oxidación de los ácidos grasos en el hígado también pueden transformarse en los denominados “cuerpos cetónicos”: acetoacetato, β -hidroxibutirato y acetona. En los tejidos extrahepáticos, el β -hidroxibutirato puede oxidarse a acetoacetato que se activa en forma de acetil-CoA y se rompe en dos moléculas de acetil-CoA que entran al ciclo del ácido cítrico, constituyendo una fuente adicional de energía procedente del hígado para las células extrahepáticas (García Muriana, 2002)

2.21 Biohidrogenación de los ácidos grasos

La biohidrogenación tiene lugar en el rumen y los microorganismos son los responsables de la misma. Este proceso es el resultado de la adición de $+H$ a los ácidos grasos insaturados. La biohidrogenación de los ácidos grasos insaturados constituye un mecanismo importante a través del cual los microorganismos pueden disponer de $+H$ procedente de un ambiente ruminal reducido. Si la operación se llega a completar, todos los dobles enlaces se convierten en saturados (Church, 1993). Mientras menor sea el grado de insaturación de un ácido graso menor será el grado de biohidrogenación en el rumen (Bauman *et al.*, 2003). La biohidrogenación de los ácidos grasos insaturados es sensible al pH ruminal, lo cual puede reducir la lipólisis y el proceso de saturación a pH menor de 6 (Staples y Thatcher, 1999); sin embargo, algunos ácidos grasos insaturados escapan la biohidrogenación en el rumen para incorporarse en el tejido adiposo o en leche (Funston y Filler, 2002), mientras que al suplementar grasa parcialmente resistente a la biohidrogenación como los ácidos grasos de cadena larga protegidos con sales de calcio tienden a incrementar la cantidad de ácidos grasos insaturados a nivel duodenal (Mattos *et al.*, 2000).

La biohidrogenación se evita parcialmente mediante el consumo de lípidos protegidos con una envoltura de caseína mediante técnicas de tratamiento con formaldehído o mediante la combinación de ácidos grasos libres y cationes divalentes para formar jabones y lograr su protección ruminal y evitar la degradación microbiana en el rumen. La grasa también puede ser adicionada en su forma protegida contenidas en las semillas enteras o bien puede fluir libremente como resultado de un tratamiento o de la incorporación como grasa libre a la ración (Jenkins y Palmquist, 1984).

El nivel de biohidrogenación se reduce con dietas altas en concentrado, lo cual puede ser atribuido a la inhibición de la lipólisis al bajar el pH que es típico cuando se proporcionan este tipo de dietas (Van Soest y Demeyer, 1996).

El aceite de pescado contiene dos ácidos de cadena larga, EPA (20:5) y DHA (22:6), que usualmente se proporcionan como aceite protegido a nivel ruminal con el objeto de mejorar el comportamiento reproductivo. El grado de biohidrogenación de estos dos ácidos no está bien claro; sin embargo, estudios *in vivo* indican que gran cantidad de estos dos ácidos son biohidrogenados (Bauman *et al.*, 2003), después de 36 horas de incubación *in vitro* (Carriquiry *et al.*, 2008).

2.22 Transporte de ácidos grasos libres

Los productos de la digestión de los lípidos en rumiantes son ácidos grasos libres principalmente, éstos deben ser reesterificados en el intestino, para su transporte vía sistema linfático en forma de quilomicrones o lipoproteínas. La absorción del glicerol y de los ácidos grasos libres de cadena corta (2 a 10 carbonos) se lleva a cabo por transporte pasivo a la sangre mesentérica y de ahí pasan al sistema sanguíneo portal (Church, 1993).

Después de atravesar las células epiteliales los ácidos grasos libres se convierten en derivados de la coenzima A en presencia de ATP. Este complejo, ácido graso-coenzima A, reacciona con los monoglicéridos dentro de la célula para formar diglicéridos y luego triglicéridos. Los ácidos grasos libres se transportan en un complejo con albúmina los cuales pueden ser tomados directamente por la glándula mamaria cuando las concentraciones plasmáticas son altas (animales ayunados, Church y Pond, 1998). Así como también los ácidos grasos libres penetran en el intestino unidos a materia particulada y posteriormente son emulsionados, dispersados en micelas mediante la acción de la lipasa pancreática y de las sales biliares, y se difunden hacia el interior de las células intestinales. En las células intestinales los ácidos grasos son reesterificados y transportados vía lipoproteínas de muy baja densidad o quilomicrones hacia el sistema linfático (Church, 1993).

Los ácidos grasos volátiles de cadena corta van directamente al hígado vía sangre tras ser absorbidos a través de la pared del rumen. La síntesis es mínima en el hígado y amplia en el tejido adiposo. Los principales precursores para la síntesis de grasa son acetato, butirato y lactato. La tasa de absorción de los ácidos grasos volátiles es influenciada por el pH del rumen y por la longitud de la cadena de los ácidos individuales. Cuando desciende el pH en la cara epitelial del interior del rumen, aumenta la tasa de absorción de los ácidos grasos volátiles, indicando que el incremento en la proporción de ácidos presentes en la forma no disociada (libres) favorece una absorción más rápida. El aumento de la longitud de la cadena aumenta también la tasa de absorción de los ácidos no disociados como sigue: butírico>propiónico>acético. Con un pH normal en el rumen aparecen concentraciones relativamente bajas de ácidos grasos libres y sigue produciéndose una eliminación eficiente de estos productos finales de la fermentación (Church, 1993).

2.23 Digestión de los ácidos grasos en el intestino

En los rumiantes la mayor parte de la grasa llega al intestino en forma de ácidos grasos no esterificados y ligados de forma no iónica en un complejo insoluble a la materia particulada (Doreau y Chilliard, 1997) El pH de la ingesta que fluye al abomaso es muy bajo y se mantiene durante su recorrido a través de la mitad proximal del intestino delgado debido a la limitada actividad tampón de las secreciones pancreáticas que presentan niveles bajos de bicarbonato. Como consecuencia, los ácidos grasos son ionizados en estas condiciones de pH y los jabones de ácidos grasos insolubles en el rumen son solubilizados, aumentando tanto la absorción de los ácidos grasos como de los minerales. Los ácidos grasos saturados son digeridos en mayor proporción que los ácidos grasos insaturados a nivel intestino. En esencia, los ácidos grasos de cadena larga no abandonan el tracto digestivo antes de llegar al intestino delgado y como consecuencia con la contribución de la síntesis microbiana en el rumen, las cantidades de ácidos grasos

que llegan al duodeno suelen superar a la cantidad ingerida. El intestino delgado es responsable de la absorción de todos los ácidos grasos de cadena larga (Church, 1993).

Los ácidos biliares son esenciales para la digestión y absorción de los ácidos grasos en los rumiantes, debido a que determinan una dispersión de los ácidos grasos como resultado de su acción detergente (Demeyer y Doreau, 1999). Para que tenga lugar la digestión de los ácidos grasos deben ser transferidos desde la fase particularizada insoluble y emulsionada a la fase miscelar. Esta transferencia no se realiza si no está presente la bilis, incluso aunque exista el jugo pancreático. Los conductos pancreáticos y biliares convergen en un conducto común en su entrada al duodeno (Church, 1993).

2.24 Glicerol

El glicerol es un componente alcohólico de todos los tejidos animales y vegetales (Church y Pond, 1998) y se utiliza para aumentar las concentraciones de propionato ruminal, glucosa e insulina en plasma, con la finalidad de mejorar los perfiles hormonales que incidan positivamente en el comportamiento reproductivo de la oveja, así como también, se ha usado para la prevención de cetosis después del parto y disminuir los problemas metabólicos (Pickett *et al.*, 2003).

El glicerol es metabolizado a propionato en el rumen pero la mayoría escapa del rumen para ser transformado a glucosa por el hígado, principalmente vía lactaldehído y subsecuentemente la oxidación a lactato (Rizos *et al.*, 2008). Esta hipótesis se basa en estudios realizados por Martínez (2004) donde observó un incremento inmediato de glicerol en ovejas tratadas con glicerol y con un posterior aumento de glucosa, lo que lleva a suponer que la glucosa es la que ejerce el principal estímulo para el aumento de la tasa de ovulación durante el tratamiento con soluciones gluconeogénicas como el glicerol.

De esta manera, se deduce que el incremento en la tasa de ovulación en respuesta al glicerol se debe a cambios inducidos por la glucosa en los niveles de insulina, probablemente a una modificación en la capacidad de respuesta de los ovarios a FSH y LH, sin que exista una modificación en los niveles de la secreción de gonadotropinas.

Downing *et al.* (1995) realizaron una infusión en sangre de glucosa por 5 días en ovejas durante la fase lútea tardía hasta el momento de la luteólisis y observaron un incremento en la tasa de ovulación en las ovejas, acompañado por un aumento de glucosa circulante y por un aumento notable en la concentración de insulina sin observar cambios en la secreción de LH ni FSH.

Al proporcionar glicerol, propileno glicol y propionato de calcio a vacas, se observó un intervalo corto a la primera inseminación y disminuyó la concentración de ácidos grasos no esterificados (Rizos *et al.*, 2008). Así como también incrementaron linealmente las concentraciones de glucosa e insulina y disminuyó el β -hidroxibutirato (Grummer *et al.*, 1994).

El efecto inmediato promovido por la nutrición podría estar involucrado en la acción directa a nivel de ovario incrementando el crecimiento folicular y las concentraciones de glucosa, insulina y leptina (Muñoz-Gutiérrez *et al.* 2004, Viñoles *et al.*, 2005). Este efecto nutricional suprime la secreción de estradiol durante la fase folicular del ciclo estral y estimula e incrementa la foliculogénesis y la tasa ovulatoria (Scaramuzzi *et al.*, 2006). El efecto nutricional también aumenta las concentraciones de glucosa e insulina las cuales son importantes señales para el inicio de la estimulación de los folículos dependientes de gonadotropinas, promoviendo la selección de más folículos dentro de la oleada preovulatoria. El pool de folículos disponibles por la acción de la glucosa y hormonas metabólicas juegan un papel estimulador en el incremento de la tasa de ovulación en la oveja.

El modelo propuesto que muestra la acción de la nutrición a nivel de ovario es una inhibición de la secreción de estradiol a nivel folicular por los tres sistemas metabólicos (leptina, glucosa-insulina e IGF). Estos tres sistemas metabólicos moduladores tienen acción intrafolicular en el efecto agudo de la nutrición, mientras que el efecto estático y dinámico están mediados principalmente por el sistema leptina (Scaramuzzi *et al.*, 2006).

El balance energético negativo tiene un efecto directo a nivel de ovario disminuyendo la foliculogénesis en las ovejas y son independientes estos efectos a nivel hipotálamo-hipófisis. Mientras que, el balance energético positivo incrementa las concentraciones de glucosa, leptina e insulina en la sangre y estimula el sistema IGF, estos cambios afectan directamente al ovario y están asociados con el incremento de la foliculogénesis y la tasa ovulatoria en ovejas. Además, está asociado con alteraciones en el metabolismo hepático de esteroides que conllevan a disturbios entre el ovario y el sistema hipotálamo-pituitaria (Scaramuzzi *et al.*, 2006).

Cambios en los niveles de insulina inducidos por modificaciones en el nivel de alimentación están estrechamente relacionados con las concentraciones de IGF-I e IGF-II y un incremento en los niveles de IGF-1 aumenta la capacidad esteroidogénica y el crecimiento de los folículos ováricos (O'Callaghan y Boland, 1999).

El sistema IGFs es un potente estimulador de la esteroidogénesis, aumentando la proliferación y diferenciación de las células de la granulosa y de la teca, además juegan un papel crucial en la selección del folículo dominante y en el metabolismo de la glucosa por actuar a través del receptor tipo 1 (Muñoz-Gutiérrez *et al.*, 2004; Viñoles *et al.*, 2005, Scaramuzzi *et al.*, 2006). Además, suprime la apoptosis de los folículos ováricos, reduciendo así la atresia e incrementando el número de folículos que desarrollan en el estado ovulatorio (Scaramuzzi *et al.*, 1999).

Se acepta que los efectos nutricionales están mediados de forma importante por la glucosa a través de la insulina; así como, por la acción de los IGFs a nivel intrafolicular (O'Callaghan y Boland, 1999)

2.25 L-arginina

La arginina actúa como una señal molecular que regula esencialmente la función celular como: la síntesis de proteínas, hormonas, apoptosis y crecimiento (Ellen *et al.*, 2004). Así como también está involucrada en el transporte de aminoácidos catiónicos en varios tipos de células (Ricciardolo, 2004) y en la desintoxicación de amoníaco, que es una sustancia extremadamente tóxica para el SNC.

La L-arginina desempeña una función múltiple en el metabolismo animal por servir como un sustrato para la síntesis de proteínas, un intermediario en el ciclo de la urea y un precursor para la síntesis de varias moléculas metabólicas importantes, incluyendo al óxido nítrico (ON) y poliaminas (Mateo *et al.*, 2007).

Resultados experimentales indican que la L-arginina es esencial para la espermatogénesis, la supervivencia embrionaria, crecimiento fetal y neonatal, así como para el mantenimiento del tono vascular y la hemodinámica. Además, se ha encontrado una clara evidencia que la suplementación vía dieta o la administración intravenosa de arginina es benéfica en la mejora del comportamiento reproductivo (Guoyao, 2009a, Guoyao *et al.*, 2009).

El efecto de suplementar arginina en la retención de nitrógeno y posiblemente, la estimulación del crecimiento también puede estar mediada por los cambios en la secreción de hormonas (Guilhermet, 1996). Se ha demostrado que la arginina estimula la secreción de insulina (Kim *et al.*, 2004), glucagón (Sano *et al.*, 1995), la hormona de crecimiento y prolactina (Kim *et al.*, 2004).

Hamra *et al.* (2003) encontraron que al suplementar arginina protegida ($0.5 \text{ g kg peso}^{-1} \text{ vivo}^{-1}$) a ovejas Awassi prepúberes y adultas, se mostró un efecto positivo en la inducción a la pubertad y se mejoró el comportamiento reproductivo de las ovejas adultas.

2.26 Síntesis de arginina

La L-Arginina es sintetizada a partir de glutamina, glutamato y prolina intestinal a través del eje renal en la mayoría de los mamíferos (Wu, 1998). La arginina se produce por múltiples vías que son: por la arginasa, la óxido nítrico sintasa y descarboxilasa. Estas vías producen óxido nítrico, poliaminas, prolina, ácido glutámico y creatina, cada una con una enorme importancia biológica (Guoyao, 2009).

No existe un consumo importante de glutamato arterial o prolina por el intestino delgado (Wu *et al.*, 1994). De este modo, la glutamina dietética, el glutamato y prolina deben ser el principal sustrato para la síntesis de citrulina intestinal (Wu, 1998). La citrulina es un precursor efectivo de la arginina (Wu y Morris, 1998), y la síntesis de arginina está limitada principalmente por la producción de citrulina por órganos como el intestino delgado.

La síntesis de arginina, se produce a través del ciclo de la urea en el hígado posiblemente por el suministro de ornitina. Sin embargo, la síntesis de arginina en el hígado está ausente debido a los altos niveles de la arginasa, la enzima que degrada la arginina (Wu y Morris, 1998).

2.27 Óxido nítrico (NO)

El NO se sintetiza a partir de arginina por la óxido nítrico sintasa, por lo que la disponibilidad de arginina es uno de los factores limitantes en la producción de NO celular. Citrulina es formado como un subproducto de la reacción de la NOs la cual puede ser reciclada hacia arginina por medio de la arginosuccinato sintetasa

y arginosuccinato liasa, formando el ciclo citruline-NO (Masataka y Tomomi, 2004).

La localización anatómica de las neuronas del ON se aproxima a las neuronas de GnRH en el hipotálamo, sugiriendo que el NO puede ser un importante regulador en la secreción de GnRH. Las neuronas del NO están presentes en varios núcleos hipotalámicos, incluyendo sitios involucrados en la regulación de la secreción de GnRH tales como el órgano vascular de la lámina terminal, área preóptica, núcleo preóptico, núcleo hipotalámico ventromedial, núcleo arcuato y la eminencia media (Grossmann *et al.*, 1994).

El NO sintetizado a partir de arginina, su único sustrato fisiológico, es un agente regulador importante en diversos procesos reproductivos de la hembra (Tamanini *et al.*, 2003), como el mantenimiento de la preñez, el parto, el crecimiento y desarrollo de la placenta (Kwon *et al.*, 2004), la producción de GnRH basal (Bath *et al.*, 1995), estimulando la secreción de LH (Honaramooz *et al.*, 1999), la foliculogénesis y es un mediador importante del flujo sanguíneo durante el embarazo (Gardner *et al.*, 2001).

El papel del NO en el control de la GnRH preovulatoria y la oleada de LH ha sido cuestionada, en base a resultados de estudios usando inhibidores de la NOs, se reduce la inducción de esteroides y el pico preovulatorio de LH en ratas (Bonavera y Kalra, 1996).

Un aumento en la síntesis de NO durante la gestación puede contribuir a una mejor transferencia de sustratos vitales desde la madre hasta la sangre fetal (Manser *et al.*, 2004).

La activación de la NOSn en las neuronas hipotalámicas del NO aumentan la producción de NO, el cual se difunde fuera de las células para activar receptores adyacentes a las neuronas de GnRH, incrementando las prostaglandinas y la exocitosis de la GnRH (Bonavera y Kalra, 1996).

El NO es sintetizado por el ovario y se menciona que juega un papel en la esteroidogénesis, ovulación y luteólisis. A nivel de ovario se detectaron la NOS_e y NOS_i, ambas isoformas de NOS que regulan la secreción de gonadotropinas. Los cambios cíclicos de los subtipos de NOS en el ovario afectan directamente la función ovárica, al incrementar la actividad de NOS a nivel de ovario afecta el tiempo de la oleada preovulatoria sugiriendo que el NO puede participar en el proceso de ovulación y en la producción de prostaglandinas (Yamauchi *et al.*, 1997).

Se ha postulado que el NO es un importante mediador en el proceso de ovulación, reflejándose en la dilatación vascular y por el incremento en la producción de prostaglandinas. La NOS_i es localizada principalmente en las células de la granulosa de los folículos maduros, estas evidencias sugieren que el NO podría tener propiedades antiapoptóticas en las células de la granulosa por mecanismos parácrinos y así prevenir la atresia prematura de los folículos en desarrollo (Matsumi *et al.*, 1998).

El NO es un importante mediador en la acción de las hormonas y neurotransmisores los cuales son vitales para la regulación de la reproducción. El NO está involucrado en el control de la LH y en la ovulación. Un gran número de neurotransmisores inhibitorios y estimulatorios afectan las neuronas de la NOS en el hipotálamo, controlando la secreción de NO. La producción de NO es responsable para la inducción de prostaglandina y cGMP en la secreción de GnRH. El efecto de retroalimentación positiva del estradiol hacia el pico de LH es

posiblemente mediado por un incremento en la producción de NO el cual facilita el pico de LH y la ovulación (Deep y Parvizi, 2001).

2.28 L-Glutamina

La comunicación endócrina hipotálamo-hipofisiaria pueden ser favorecidas por la acción de ciertos compuestos que actúan como neurotransmisores, cuya actividad puede incrementarse mediante la suplementación de aminoácidos excitadores (AAE; Meza-Herrera *et al.*, 2005). Los AAE son considerados los principales neurotransmisores del SNC al mediar la excitación sináptica dentro del cerebro (Urbanski *et al.*, 1994). El glutamato es reconocido como un aminoácido excitador que afecta diversos procesos fisiológicos debido a la existencia de un gran número de subtipos de receptores a glutamato en el SNC (Platt, 2007).

Los aminoácidos excitatorios son componentes esenciales de la transmisión neuroendocrina que regula la pituitaria anterior con la secreción de LH y FSH. Un ejemplo es el glutamato, el cual se encuentra en núcleos hipotalámicos importantes tales como el núcleo arcuato, núcleo supraquiasmático, núcleo supraóptico, núcleo paraventricular y el área preóptica (Brann y Mahesh, 2002). La activación de los receptores a AAE ha sido implicada en varios procesos fisiológicos que incluyen aspectos de aprendizaje (McDonald y Johnstone, 1990) hasta la activación del eje reproductivo de la pubertad hasta la etapa adulta. El efecto de los AAE en el eje reproductivo, pareciera ser particularmente importante, en animales que muestran una reproducción estacional ya que, en roedores, el agonista del receptor para AAE, N-metil-D-aspartato (NMDA), puede activar las neuronas LHRH.

Los AAE causan la liberación de gonadotropinas, aun en roedores mantenidos en un anesto reproductivo motivado por un efecto inhibitorio de fotoperiodos de días cortos (Urbanski, 1990).

La fuente de progesterona bajo condiciones fisiológicas podría ser el ovario (cuerpo lúteo) o las adrenales. Las neuronas de GnRH no poseen receptores de estrógenos y progesterona, esta función es modulada por otros neurotransmisores del sistema nervioso central y productos neurosecretorios. Entre estos, los aminoácidos excitatorios han mostrado un papel importante en la regulación de la secreción pulsátil de gonadotropinas, de esteroides e inducción a la pubertad. El glutamato, aminoácido excitatorio endógeno ejerce su acción a través de receptores ionotrópicos y metabotrópicos. Los receptores ionotrópicos consisten de dos clases. La NMDA (N-metil-D-aspartato) y la no NMDA: cainate y AMPA (DL-alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-asoxazole ácido propiónico). Su principal acción es modular el Na⁺, K⁺ y Ca²⁺ en los canales iónicos. Por otra parte, los receptores metabotrópicos actúan en modular la secreción de la proteína G de Ca⁺ intracelular o modular la actividad de adenilato ciclasa (Brann y Mahesh, 2002).

Los receptores de los aminoácidos excitatorios se encuentran en áreas hipotalámicas involucradas con la reproducción, mientras que ambos receptores (NMDA y no NMDA) están involucrados en la regulación de la secreción de LH, y solamente los receptores NMDA pueden estar involucrados con la regulación de la pubertad y la secreción de FSH (Brann y Mahesh, 1995).

Los diferentes subtipos de receptores de AAE se encuentran en una gran variedad de áreas del hipotálamo y del cerebro. El mejor sitio de acción de NMDA es en el área preóptica donde los cuerpos celulares de GnRH residen. AMPA y cainate parecen actuar principalmente en el núcleo arcuato/eminencia media, el sitio de las terminales nerviosas de la GnRH. NMDA también puede actuar sobre las neuronas noradrenérgicas para influir en la secreción de GnRH del hipotálamo (Brann y Mahesh, 2002).

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La nutrición es uno de los principales factores externos que influyen en la función y eficiencia reproductiva en las ovejas (Martin *et al.*, 2004), la cual engloba a la energía, proteínas y minerales (Grummer *et al.*, 1994). Lo anterior ha implicado el desarrollo de numerosas investigaciones tendientes a identificar las condiciones y los mecanismos fisiológicos a través de los cuales la nutrición influye en la actividad reproductiva (Dun y Moss, 1992). Para ello se han evaluado tratamientos hormonales, programas de mejoramiento genético y estrategias nutricionales. Dentro de estas últimas destaca la estrategia de incrementar el aporte energético o proteico a la oveja previo al empadre, práctica conocida como alimentación focalizada, estrategia que tiene la finalidad de aumentar la tasa de ovulación, disminuir pérdidas embrionarias y fetales, maximizar la sobrevivencia y desarrollo posnatal de los corderos y la producción de calostro (Martin *et al.*, 2004).

De esta manera, el objetivo de esta investigación fue evaluar la respuesta del glicerol, aceite de pescado y L-glutamina vía dieta y L-Arginina vía intravenosa en ovejas de pelo en variables reproductivas.

IV. ESTUDIOS REALIZADOS

V. ESTUDIO 1

VI. VARIABLES REPRODUCTIVAS EN OVEJAS DE PELO SUPLEMENTADAS CON GLICEROL, ACEITE DE PESCADO Y L-ARGININA

6.1 Resumen

Se evaluó el efecto de suplementar a ovejas Pelibuey, en la época reproductiva, con glicerol (G), aceite de pescado (AP) y L-arginina (AR) en la incidencia del estro (IE), en la tasa ovulatoria (TO), en tasa de retorno al estro (RE), en tasa de gestación (TG) y en la prolificidad. Al inicio del experimento (día 0) las ovejas (n=167) fueron sincronizadas al estro con un CIDR (9 días *in situ*), y el día 7 recibieron PGF_{2α}. El día 5, las ovejas fueron asignadas a uno de ocho tratamientos: 1) sin G, AP o AR (Testigo, n=21); 2) 100 ml G (n=21); 3) 70 mL AP (n=20); 4) 3 g AR (n=21); 5) 100 mL G + 70 mL AP (n=21); 6) 100 mL G + 3 g AR (n=21); 7) 70 mL AP + 3 g AR (n=21); 8) 100 mL G + 70 mL AP + 3 g AR (n=21). El estro se detectó durante cuatro días iniciando 12 h pos-retiro del CIDR. Las ovejas en estro fueron inseminadas (IA) 12 h post-estro. 45 días post IA se realizó diagnóstico de gestación. No hubo diferencias ($P>0.05$) en IE, TO, RE, TG y prolificidad. La suplementación con G, AP y AR antes del estro no afectó las variables reproductivas de ovejas Pelibuey.

Palabras clave: época reproductiva, Pelibuey, glicerol, L-arginina, aceite de pescado

6.2 Introducción

En años recientes, la producción de razas ovinas de Pelo en México ha sido relevante por su adaptación a las condiciones ambientales y su eficiencia reproductiva (Ortiz *et al.*, 2000). El éxito de las explotaciones ovinas depende, entre otros factores, de lograr mayor prolificidad para obtener mayor número de corderos⁻¹ hembra⁻¹ año⁻¹, característica que está influida en principio por la tasa ovulatoria (Blache, 2003).

En la producción comercial de corderos se ha buscado incrementar la prolificidad por medio de tratamientos hormonales, programas de mejoramiento genético o por el empleo de diferentes estrategias nutricionales. Dentro de estas últimas destaca el incremento del aporte energético o proteico a la borrega previo al empadre, práctica conocida como alimentación focalizada, la cual tiene la finalidad de disminuir costos en la alimentación y obtener mayores beneficios en las explotaciones; esta estrategia puede ser focalizada en el caso de la hembra, para aumentar la tasa ovulatoria, evitar pérdidas embrionarias y fetales, maximizar la sobrevivencia y desarrollo posnatal y la producción de calostro (Martin *et al.*, 2004).

Para ello se necesita investigar alternativas nutricionales menos exploradas en la alimentación de las ovejas que incidan de manera positiva en las respuestas reproductivas en las explotaciones. Se han realizado investigaciones independientes sobre el efecto de administrar glicerol (Martínez, 2004; Méndez, 2007), aceite de pescado y L-arginina (Bulbarela, 2007; Hernández, 2009) en la reproducción de las ovejas; sin embargo, el efecto combinado de estos tres elementos no ha sido estudiado en la reproducción de las ovejas Pelibuey. Por ello, en el presente estudio se evaluó el efecto del *flushing* con glicerol, aceite de pescado y L-arginina durante la época reproductiva en las variables reproductivas de ovejas Pelibuey.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Localización

El estudio se realizó durante la época reproductiva de 2008 en el Laboratorio de Reproducción de Ovinos y Caprinos (LaROCa) del Colegio de Postgraduados, que se localiza en Montecillo municipio de Texcoco, Edo. de México, con coordenadas geográficas de 98°53' O y 19° 29' N y con altitud de 2250 msnm. El clima corresponde a un Cb(wo)(w)b(i)' templado sub-húmedo, con lluvias en verano, precipitación media anual de 636.5 mm y una temperatura media anual de 15.2°C (García, 1988).

7.2 Animales

Se utilizaron 167 ovejas multíparas con un peso promedio de 49 ± 0.8 kg y de condición corporal 4 en una escala de 1 a 5 (Russel *et al.*, 1969). Un mes antes del estudio todas las ovejas se desparasitaron con ivermectina (Ivomec^{MR} laboratorios Meriaal); 1 mL por cada 50 kg PV⁻¹) y se vacunaron con Ultravac 7^{MR} (2.5 mL por oveja, Laboratorios Corpeco) vía subcutánea contra enfermedades Clostridiales (*Clostridium chauvoei*, *C. septicum*, *C. novy* tipo B, *C. sordeli*, *C. perfringens* tipo C y D). Las ovejas se identificaron individualmente y se asignaron al azar a uno de ocho tratamientos que les correspondía. Las ovejas estuvieron alojadas durante el encierro nocturno en corrales provistos de agua y sales minerales.

7.3 Tratamientos

El estudio consistió en evaluar la suplementación con glicerol y aceite de pescado vía dieta y una inyección intravenosa de L-arginina a ovejas Pelibuey cinco días antes del empadre con las siguientes dosis: 1) sin *G, @AP o \$AR (Testigo n=21); 2) 100 mL G (n=21); 3) 70 mL AP (n=20); 4) 3 g AR(n=21); 5) 100 mL G + 70 mL AP (n=21); 6) 100 mL G + 3 g AR (n=21); 7) 70 mL AP + 3 g AR (n=21); 8) 100 mL G + 70 mL AP + 3 g AR (n=21). *Glicerol, @Aceite de Pescado, \$L-arginina.

7.4 Protocolo de sincronización

Las ovejas fueron sometidas a un protocolo de sincronización del estro con dispositivos intravaginales impregnados con 0.3 g de progesterona (CIDR®, Pfizer; dispositivo intra-vaginal liberador de progesterona), posteriormente 7 días después de la inserción de los CIDRS se les administró 1 mL (7.5 mg) de prostaglandina con el fin de lisar el cuerpo lúteo presente y de esta manera homogenizar el ciclo estral de las ovejas. Posteriormente al día 9 se removieron dichos CIDRS. Doce horas después de la remoción de los CIDRS se detectaron estros con ayuda de sementales enteros provistos de un mandil para evitar la cópula. La detección de estros se realizó doce horas después de haber retirado los CIDRS, llevándose a cabo cada cuatro horas, durante cuatro días; la oveja que se quedara inmóvil a la monta del semental se consideraba que estaba manifestando estro. Doce horas después de haberse presentado el estro, las ovejas se inseminaron intrauterinamente por laparoscopia, depositando el semen en los cuernos uterinos de la oveja a una concentración de 230×10^6 espermatozoides mL⁻¹. Diez días después de haberse presentado el estro se evaluó la tasa ovulatoria contando el número de cuerpos lúteos presentes en la superficie de ambos ovarios con ayuda de un ecógrafo (Sonovet 2000®) equipado con un transductor de 4-7 Mhz, y durante 45 días después de la inseminación se detectó el retorno al estro y en el día 45 después de la inseminación se realizó el diagnóstico de gestación con ayuda de un ultrasonido Sonovet 2000® vía transrectal. Finalmente se evaluó la prolificidad al parto contando el número de corderos nacidos por hembra parida (Figura 1).

7.5 Suplementación

La rutina de alimentación fue a libre acceso, proporcionada a razón de 1.8 Kg animal⁻¹ dos veces al día; donde el 50% se les proporcionó a las 8:00 horas, en la cual se les suministró la cantidad especificada de glicerol y aceite de pescado vía dieta y el resto a las 16:00 horas de dieta base.

El suministro de los niveles de glicerol, aceite de pescado y L-arginina iniciaron cinco días antes de la fecha esperada de la manifestación del estro y se mantuvo por este intervalo de tiempo (Figura 1). El glicerol y el aceite de pescado se mezclaron con el alimento ofrecido, mientras que la L-arginina se administró vía intravenosa en la cantidad especificada. Para administrar la L-arginina se disolvieron los 3 g de L-arginina en 10 mL de suero fisiológico a una temperatura de 70 °C, para asegurar la cantidad de arginina especificada por animal.

A excepción de estos cinco días, todas las ovejas recibieron la misma dieta desde un mes antes del ofrecimiento del glicerol, aceite de pescado y L-arginina hasta el momento del parto. La composición nutritiva de las dietas ofrecidas se muestra en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Composición analizada de las dietas experimentales.

	Dieta base	Dieta base + G	Dieta base + AP	Dieta base + G+AP
Materia seca (%)	100	100	100	100
Materia orgánica (%)	95.04	95.85	96.30	96.40
Energía metabolizable, Mcal kg ⁻¹ MS*	2.72	2.79	2.87	2.90
Proteína cruda (%)	17.16	16.58	18.47	18.60
Fibra cruda (%)	10.70	11.18	11.82	10.87
Extracto etéreo (%)	1.47	3.14	5.07	4.96
Cenizas (%)	4.96	4.15	3.70	3.60

Determinado en el Laboratorio de Nutrición de Rumiantes del Departamento de Zootecnia, de la Universidad Autónoma Chapingo.

* Valor estimado por el programa FEEDTAG del Departamento de Ciencia Animal de la Universidad de Davis California.

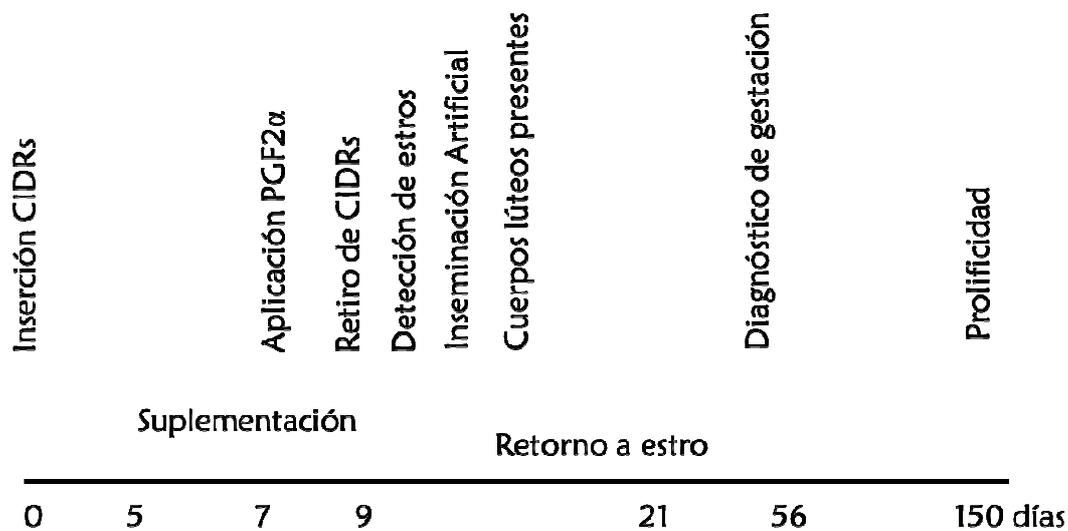


Figura 1. Cronograma de actividades durante el experimento

7.6 Variables estudiadas:

Incidencia de estros: Se midió aquellas ovejas que se dejaron montar, después de retirar el CIDR. Para la evaluación se utilizaron sementales enteros provistos de mandil.

Tasa ovulatoria: Se determinó contando el número de cuerpos lúteos presentes sobre la superficie de ambos ovarios.

Tasa de retorno al estro: Se consideró aquellas hembras que presentaron estro después de ser inseminadas.

Tasa de gestación: Número de hembras diagnosticadas como positivas con respecto al número total de las hembras servidas.

Prolificidad: Medida por el número de corderos nacidos por hembra parida.

7.7 Análisis Estadístico

Las variables de respuesta fueron: tasa de incidencia del estro (IE), tasa ovulatoria (TO, estimada por el número de cuerpos lúteos presentes), tasa de retorno al estro (RE), tasa de gestación y prolificidad. Para investigar el efecto de los tratamientos sobre las variables de respuesta expresada en porcentaje (IE, RE y gestación) se utilizó el modelo de regresión logística usando el procedimiento Logistic de SAS, mientras que para el análisis de TO y prolificidad se utilizó el modelo lineal generalizado (Regresión Binomial Negativa) con el procedimiento GENMOD del SAS (SAS, 2001). Para el análisis estadístico de IE, TO, RE, gestación y prolificidad se tomaron en cuenta todas las ovejas.

VIII. RESULTADOS

El 98% de las ovejas mostró estro, y la IE no fue influida ($P>0.05$) por la adición de G, AP y/o AR (Cuadro 2). La TO no fue afectada ($P>0.05$) por los tratamientos, y se obtuvieron en promedio 1.32 CL oveja⁻¹ (Cuadro 2). La tasa de RE fue 34%, y no fue influida ($P>0.05$) por efecto de los tratamientos. La tasa de gestación fue 65%, y no fue afectada ($P>0.05$) por los tratamientos. En promedio se obtuvieron 1.97 corderos oveja parida⁻¹, y la prolificidad no presentó diferencias ($P>0.05$) por efecto de los tratamientos.

Cuadro 2. Características reproductivas de ovejas Pelibuey suplementadas con glicerol (G), aceite de pescado (AP) y L-arginina (AR) cinco días antes del empadre.

Variable	Tratamientos								Probabilidad
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Número de ovejas (N)	21	21	20	21	21	21	21	21	
IE (%)	95.2	100	100	100	100	90.4	100	100	0.16
EEM*	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	
TO (No.)	1.32	1.35	1.36	1.37	1.31	1.3	1.24	1.29	0.18
EEM*	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	
RE (%)	35	23.8	25	38.1	47.6	42.1	28.5	33.3	0.73
EEM*	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	
TG (%)	62	76.2	75	61.9	52.4	57.9	71.4	66.7	0.73
EEM*	0.1	0.1	0.11	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	
Prolificidad	1.85	2	2	2	2.09	2.09	2	1.71	0.56
EEM*	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	

*Errores estándar de la media.

IE: incidencia del estro. TO: tasa ovulatoria (número de cuerpos lúteos). RE: tasa de retorno al estro. TG: tasa de gestación. Prolificidad.

Tratamiento 1 = sin adición de G, AP ni AR; grupo testigo.

Tratamiento 2 = 100 mL de G.

Tratamiento 3 = 70 mL de AP.

Tratamiento 4 = 3 g de AR.

Tratamiento 5 = 100 mL de G + 70 mL de AP.

Tratamiento 6 = 100 mL de G + 3 g de AR.

Tratamiento 7 = 70 mL de AP + 3 g de AR.

Tratamiento 8 = 100 mL de G + 70 mL de AP + 3 g de AR.

También se realizó un análisis factorial para investigar efectos de interacción entre (G*AP; G*AR; AP*AR; G*AP*AR) usando regresión logística y regresión binomial negativa, donde no se encontró efectos significativos ($P > 0.05$) de interacción.

IX. DISCUSIÓN

Las variables estudiadas en este experimento no fueron influidas por la administración de G, AP o AR a las ovejas. En el caso de la IE, el resultado fue superior a los reportados por Bulbarela (2007), quien en la época reproductiva suplementó a ovejas de pelo con AR y AP, y al obtenido por Méndez (2007), quien suplementó a ovejas de pelo con G vía dieta también en la época reproductiva. El alto porcentaje de celo obtenido en este estudio fue probablemente debido a que las ovejas se encontraban en actividad reproductiva y en buenas condiciones de salud, y la alimentación se les proporcionó en horas específicas para evitar problemas metabólicos, caso frecuente en las explotaciones en confinamiento, debido principalmente a las altas concentraciones de granos en las dietas. Además, se infiere que las ovejas se encontraban en un balance energético positivo por lo que se supone aumentaron las concentraciones de leptina, glucosa e insulina afectando directamente al ovario lo cual está asociado con un incremento en la foliculogénesis y de esta manera se cree que mejoraron los perfiles hormonales que inciden positivamente en el comportamiento reproductivo de la oveja para la manifestación del estro (Scaramizzi *et al.*, 2006).

La TO es uno de los componentes más importantes del funcionamiento reproductivo en ovejas. El resultado obtenido en el presente estudio fue inferior al reportado por Martínez (2004), quien luego de suplementar ovejas con diferentes dosis de G obtuvo una TO promedio de 2.14 CL oveja⁻¹. Sin embargo, el resultado coincidió con lo hallado por Bulbarela (2007), quien suplementó ovejas con AP y AR y obtuvo en promedio 1.73 CL oveja⁻¹. Estos resultados inconsistentes en la TO sugieren que este incremento pudiera depender del estatus folicular al comienzo de la suplementación nutricional, entre otros factores (Stewar, 1990), tales como cantidad y calidad de nutrimentos que entran a nivel celular para aumentar la secreción de gonadotropinas o bien actuar a nivel de ovario aumentando la concentración de progesterona (Smith, 1988).

Viñoles (2003), observó que la suplementación por siete días, del día 8 al 14 del ciclo estral, incrementó la TO en 15%, mientras que la suplementación por seis

días, del día 9 al 14 del ciclo estral con la misma raza y en la misma estación reproductiva, no afectó la TO (Viñoles *et al.*, 2004). Estas inconsistencias también pudieran estar relacionadas con la entrada de glucosa a las células en animales con un alto nivel de energía y proteína (Boland *et al.*, 2001). Por lo tanto, estos resultados implican a la glucosa en el control de la función ovárica y dado que los niveles de glucosa están regulados por la insulina, también sugieren que esta hormona afecta el crecimiento folicular en ovejas (O`Callaghan y Boland, 1999). El número de cuerpos lúteos localizados por ultrasonografía entre los días 8 a 11 después de la presentación del estro puede utilizarse para inferir la prolificidad particular de las ovejas y ser un indicador general de la prolificidad del rebaño (Viñoles, 2003).

Los resultados obtenidos en la presente investigación no fueron influidos por la dosis de G, AP y AR para RE, se obtuvo un promedio general de 34% de ovejas en retorno al estro, lo cual sugiere que el AP puede servir como sustrato para la biosíntesis de inhibidores de prostaglandinas, por lo que la inhibición de la producción de prostaglandinas resultaría en el control de la luteólisis, es decir aumentaría la vida del cuerpo lúteo y mejoraría la supervivencia del embrión (Staples *et al.*, 1998; Cheng *et al.*, 2001), caso que se presentó en esta investigación ya que la mayoría de las ovejas estuvieron gestantes (66%).

El AP contiene ácidos grasos poliinsaturados como el ácido eicosapentanoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA), que pueden inhibir o aumentar la síntesis de $PGF_{2\alpha}$ a través de una disminución en la disponibilidad de sus precursores, o bien a través de un incremento en la competencia de estos ácidos grasos con el ácido araquidónico para ligar a la prostaglandina-H-sintasa (Mattos *et al.*, 2000). Al proporcionar EPA se produjo la supresión de la síntesis de $PGF_{2\alpha}$ en el útero por la competencia con algunas enzimas, la enzima prostaglandina endoperoxidasa sintasa (PGHS), se requiere para la conversión del ácido araquidónico a $PGF_{2\alpha}$ (Mattos *et al.*, 2004). Sin embargo, DHA no es un sustrato para PGHS, es un

fuerte inhibidor para la actividad de esta enzima. Cuando se consumen ambos ácidos EPA y DHA, la conversión del ácido graso araquidónico a $\text{PGF}_{2\alpha}$ puede reducirse, lo que incrementaría los cambios de sobrevivencia del nuevo embrión formado (Staples *et al.*, 2002). Por lo tanto, es posible que se haya presentado un aumento en la síntesis de $\text{PGF}_{2\alpha}$ que redujo la vida del cuerpo lúteo y en consecuencia la síntesis de progesterona, lo que pudo haber ocasionado la tasa de gestación obtenida en este estudio. La tasa de gestación obtenida fue superior a la reportada por Méndez (2007), quien suplementó a ovejas de pelo con G en la dieta y obtuvo en promedio 59% de ovejas gestantes; sin embargo, fue inferior a la obtenida por Bulbarela (2007), quien suplementó ovejas con AP y AR y obtuvo 83% de ovejas gestantes.

La prolificidad es la característica reproductiva que muestra en una explotación ovina el número de corderos paridos por oveja. El resultado obtenido en el presente estudio fue superior al reportado por Méndez (2007), quien obtuvo 1.54 corderos oveja parida¹. En general los valores reportados con respecto a esta variable en ovejas de pelo son bajos. Combellas (1980) y Peron *et al.* (1991) resumieron varios estudios en climas tropicales y subtropicales usando ovejas Pelibuey observando un promedio de 1.2 y 1.6 corderos por hembra parida respectivamente. Por otra parte, Avendaño *et al.* (2005) obtuvieron una prolificidad de 2.5 corderos por hembra parida en el Norte de México durante dos años consecutivos en ovejas de pelo; tal resultado es superior al obtenido en el presente trabajo.

X. CONCLUSIÓN

Aplicar alimentación focalizada en la época reproductiva mediante la adición de G y AP en la dieta y una inyección intravenosa de AR no mejoró ninguna de las características reproductivas evaluadas en las ovejas.

XI. ESTUDIO II

XII. VARIABLES REPRODUCTIVAS EN OVEJAS PELIBUEY SUPLEMENTADAS CON GLICEROL Y L-GLUTAMINA

12.1 Resumen

Se evaluó el efecto de suplementar a ovejas Pelibuey, en la época de anestro estacional, con glicerol (G) y L-glutamina (GLU) en incidencia del estro (IE), tasa de retorno al estro (RE), tasa de gestación (TG) y prolificidad. El día 0 las ovejas (n=188) fueron sincronizadas al estro con un CIDR (9 días *in situ*), y el día 7 recibieron PGF_{2α}. El día 6, las ovejas fueron asignadas a uno de cuatro tratamientos: 1) sin G y GLU (Testigo; n=48); 2) 100 mL G (n=46); 3) 50 g GLU (n=46); 4) 100 mL G + 50 g GLU (n=48). El estro se detectó durante cuatro días iniciando 12 h post-retiro del CIDR. Las ovejas en estro fueron inseminadas (IA) 12 h post-estro. 45 días post IA se realizó diagnóstico de gestación. No hubo diferencias (P>0.05) en IE, RE, TG y prolificidad. La suplementación con G y GLU antes del estro no afectó las variables reproductivas de ovejas Pelibuey.

Palabras clave: época de anestro, Pelibuey, glicerol, glutamina.

12.2 Introducción

En años recientes, la producción de ovinos de pelo en México se ha incrementado por la adaptación a las condiciones ambientales del trópico y a la eficiencia reproductiva que presentan (Ortiz *et al.*, 2000).

El éxito de una explotación ovina depende, entre otros factores, de obtener altos parámetros reproductivos durante la época de anestro, uno de ellos es el número de corderos hembra⁻¹ año⁻¹, este parámetro es conocido como prolificidad, el cual a su vez está influido por la tasa de ovulación (Blache, 2003).

Para incrementar el número de corderos hembra⁻¹ año⁻¹ se ha buscado incrementar la tasa de ovulación por medio de tratamientos hormonales, programas de mejoramiento genético y estrategias nutricionales. Dentro de estas últimas destaca la estrategia de incrementar el aporte energético y proteico a la oveja previa al empadre, práctica conocida como *flushing* la cual tiene la finalidad de estimular a los ovarios para incrementar el número de ovocitos (Blache, 2003).

En mamíferos, la eficiencia reproductiva de las hembras depende de las respuestas ováricas a las secreciones hipofisarias promovidas por el hipotálamo, las cuales a su vez pueden ser moduladas por el estado metabólico del animal (Meza-Herrera *et al.*, 2002).

Por lo anterior una inadecuada nutrición se caracteriza por un deficiente perfil endocrino, tanto gonadotrópico como metabólico lo cual afecta negativamente la función reproductiva, generando retrasos en el inicio de la pubertad, ciclos estrales irregulares y una disminución global en la eficiencia reproductiva (Meza-Herrera *et al.*, 2005).

La comunicación endócrina hipotálamo-hipofisiaria se puede favorecer por la acción de ciertos compuestos que actúan como neurotransmisores, cuya actividad puede incrementarse mediante la suplementación de aminoácidos excitadores (Meza-Herrera *et al.*, 2005).

Los aminoácidos excitadores son considerados los principales neurotransmisores del sistema nervioso central (SNC) al mediar la excitación sináptica dentro del cerebro. El Glutamato es conocido como un aminoácido excitador que afecta diversos procesos fisiológicos debido a la existencia de un gran número de subtipos de receptores a glutamato en el SNC (Brann, 1995).

Por otra parte, la suplementación de glicerol puede mejorar la eficiencia reproductiva de la oveja, favoreciendo el perfil hormonal que incida positivamente en el comportamiento de la oveja. El glicerol es un componente alcohólico de todos los tejidos animales y vegetales (Church y Pond, 1998), que aumenta las concentraciones de propionato ruminal, glucosa e insulina en plasma, entre otros metabolitos, que ayudan a mejorar los perfiles hormonales que inciden positivamente en el comportamiento reproductivo y productivo del animal (Pickett *et al.*, 2003).

Por lo anterior, es importante desarrollar estrategias nutricionales en ovejas que permitan incrementar la eficiencia reproductiva mediante la suplementación de glutamina y glicerol a corto tiempo.

XIII. MATERIALES Y MÉTODOS

13.1 Localización

El estudio se realizó durante la época de anestro estacional de 2009 en el Laboratorio de Reproducción de Ovinos y Caprinos (LaROCa) del Colegio de Postgraduados, que se localiza en Montecillo municipio de Texcoco, Edo. de México, con coordenadas geográficas de 98°53' O y 19°29' N y con altitud de 2250 msnm. El clima corresponde a un Cb(wo)(w)b(i)' templado sub-húmedo, con lluvias en verano, precipitación media anual de 636.5 mm y una temperatura media anual de 15.2°C (García, 1988).

13.2 Animales

Se utilizaron 188 ovejas primíparas y multíparas con peso promedio de 51 ± 0.06 kg y condición corporal de 3.5 en una escala de 1 a 5; (Russel *et al.*, 1969), durante la época de anestro estacional. Un mes antes de iniciar el estudio todas las ovejas fueron desparasitadas con ivermectina (Ivomec^{MR} laboratorios Merial; 1 mL por cada 50 kg PV) y vacunadas con ultrabac 7^{MR} vía subcutánea (2.5 mL por oveja, Laboratorios Corpeco) contra enfermedades clostridiales (*Clostridium chauvoei*, *C. septicum*, *C. novy* tipo B, *C. sordeli*, *C. perfringens* tipo C y D). Las ovejas se identificaron individualmente y se asignaron al azar a uno de cuatro tratamientos que les correspondía. Las ovejas estuvieron alojadas durante el encierro nocturno en corrales provistos de agua y sales minerales.

13.3 Tratamientos

El estudio consistió en evaluar la suplementación con glicerol y L-glutamina vía dieta a ovejas Pelibuey cuatro días antes del empadre con las siguientes dosis: 1) sin *G, @GLU (Testigo n=48); 2) 100 mL G (n=46); 3) 50 g GLU (n=46); 4) 100 mL G + 50 g GLU (n=48).

*Glicerol, @L-Glutamina.

13.4 Protocolo de sincronización

Las ovejas fueron sometidas a un protocolo de sincronización del estro con dispositivos intravaginales impregnados con 0.3 g de progesterona (CIDR®, Pfizer; dispositivo intra-vaginal liberador de progesterona), posteriormente 7 días después de la inserción de los CIDRS se les administró 1 mL (7.5 mg) de prostaglandina con el fin de lizar el cuerpo lúteo presente y de esta manera homogenizar el ciclo estral de las ovejas. Posteriormente al día 9 se removieron los CIDRS. Doce horas después de la remoción de los CIDRS se detectaron estros con ayuda de sementales enteros provistos de un mandil para no permitir la cópula. La detección de estros se realizó doce horas después de haber retirado los CIDRS, llevándose a cabo cada cuatro horas, durante cuatro días; la oveja que se quedara inmóvil a la monta del semental se consideraba que estaba manifestando estro. Doce horas después de haberse presentado el estro las ovejas se inseminaron intrauterinamente por laparoscopia, depositando el semen en los cuernos uterinos de la oveja a una concentración de 230×10^6 espermatozoides mL⁻¹, y durante 45 días después de haberse inseminado se detectó el retorno al estro y a los 45 días después de la inseminación se realizó el diagnóstico de gestación con ayuda de un ultrasonido Sonovet 2000® vía transrectal y finalmente se evaluó la prolificidad al parto contando el número de corderos nacidos por hembra parida (Figura 2).

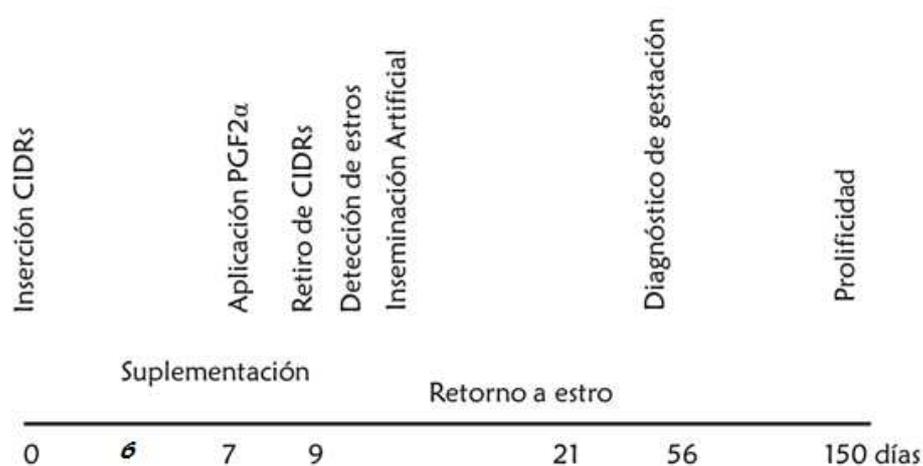


Figura 2. Cronograma de actividades durante el experimento

13.5 Suplementación

La rutina de alimentación que se llevó a cabo fue a libre acceso, proporcionada a razón de 0.5 kg animal⁻¹ distribuida dos veces al día, donde el 50% se les proporciono a las 8:00 horas, en la cual se les proporcionó la cantidad especificada de glicerol y L-glutamina vía dieta y el resto a las 16:00 horas de concentrado comercial. El ofrecimiento de los niveles de glicerol y L-glutamina inició cuatro días antes de la fecha esperada de la manifestación del estro y se mantuvo por este intervalo de tiempo (Figura 2). El glicerol y la L-glutamina se mezclaron con 0.25 kg de concentrado comercial (Borrega Pluss, Unión Tepexpan, Edo. de México) ofrecido.

A excepción de estos cuatro días, todas las ovejas recibieron la misma dieta desde un mes antes del suministro del glicerol y L-glutamina hasta el momento del parto. La composición nutritiva del concentrado comercial se muestra en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Composición calculada del concentrado comercial.

	Concentrado comercial
Energía metabolizable, Mcal kg ⁻¹ MS*	2.76
Proteína cruda (%)	15
Fibra cruda (%)	10
Grasa cruda (%)	3
Cenizas (%)	7
Humedad	7

* Valor estimado por el programa FEEDTAG del Departamento de Ciencia Animal de la Universidad de Davis California.

13.6 Variables estudiadas

Incidencia de estros: Todas aquellas ovejas que se dejaron montar, después de retirar el CIDR. Para la evaluación se utilizaron sementales enteros provistos de mandil.

Tasa de retorno a estro: Se considera aquellas hembras que presentan estro después de ser inseminadas.

Tasa de gestación: Número de hembras diagnosticadas como positivas con respecto al número total de las hembras servidas.

Prolificidad: Medida por el número de corderos nacidos por hembra parida.

13.7 Análisis Estadístico

Las variables de respuesta fueron: incidencia del estro (IE), tasa de retorno al estro (RE), tasa de gestación (TG) y prolificidad. Para investigar el efecto de los tratamientos sobre las variables de respuesta expresada en porcentaje (IE, RE y gestación) se utilizó el modelo de regresión logística usando el procedimiento Logistic de SAS, mientras que para el análisis de prolificidad se utilizó el modelo lineal generalizado (Regresión Binomial Negativa) con el procedimiento GENMOD del SAS (SAS, 2001). Para el análisis estadístico de IE, RE, gestación y prolificidad se tomaron en cuenta todas las ovejas.

XIV. RESULTADOS

Las ovejas mostraron el 99.5% de celo, y la IE no se afectó ($P>0.05$) por la adición de G y Glu (Cuadro 4). La tasa de RE fue 39%, y no fue influida ($P>0.05$) por efecto del G y Glu (Cuadro 4). La tasa de gestación fue 60%, y no fue afectada ($P>0.05$) por los tratamientos (Cuadro 4). En promedio se obtuvieron 1.1 corderos oveja⁻¹ parida⁻¹, y la prolificidad no presentó diferencias ($P>0.05$) por efecto de los tratamientos (Cuadro 4).

Cuadro 4. Características reproductivas de ovejas Pelibuey suplementadas con glicerol (G) y L-glutamina (GLU) cuatro días antes del empadre.

Variable	Tratamientos				Probabilidad
	1	2	3	4	
Número de ovejas (N)	48	46	46	48	
IE (%)	97.92	100	100	100	0.92
EEM*	0.01	0.01	0.01	0.01	
RE (%)	45.83	39.13	32.61	39.58	0.19
EEM*	0.07	0.07	0.07	0.07	
TG (%)	54.17	60.87	67.39	60.42	0.19
EEM*	0.07	0.07	0.07	0.07	
Prolificidad	0.94	1.09	1.33	1.17	0.26
EEM*	0.15	0.15	0.15	0.15	

EEM* Error estándar de la media.

IE: incidencia del estro. RE: tasa de retorno al estro. TG: tasa de gestación. Prolificidad.

Tratamiento 1 = sin adición de G ni GLU; grupo testigo.

Tratamiento 2 = 100 mL de G.

Tratamiento 3 = 50 g de GLU.

Tratamiento 4 = 100 mL de G + 50 g de GLU.

También se realizó un análisis factorial para investigar efectos de interacción entre (G*GLU) usando regresión logística y regresión binomial negativa, donde no se encontró efectos significativos ($P>0.05$) de interacción.

XV. DISCUSIÓN

Las variables estudiadas en este experimento no fueron influidas por la administración de G y GLU a las ovejas. En el caso de la IE, el resultado fue superior al reportado por Méndez (2007), quien en la época de anestro estacional suplementó a ovejas de pelo con cuatro dosis de glicerol vía dieta y al promedio general de razas de Pelo (88%, Godfrey *et al.*, 1998). El alto porcentaje de celos en este estudio fue probablemente a la efectividad de la progesterona para sincronizar el ciclo estral de las ovejas; la cual tiene un efecto inhibitorio en la secreción de LH, por lo que los eventos endócrinos que influyen en la maduración de los folículos preovulatorios y su posterior ovulación son inhibidos (Evans *et al.*, 2000). Por lo tanto, al retirar el dispositivo con progesterona, el estro y la ovulación ocurren en un tiempo determinado. Además de la acción de la prostaglandina para lisis algún cuerpo lúteo presente. No se descarta que las ovejas se encontraban en buenas condiciones de salud y la alimentación se les proporcionó en horas específicas para evitar problemas metabólicos, caso frecuente en las explotaciones en confinamiento, debido principalmente a las altas concentraciones de granos en las dietas.

Con respecto al RE, el resultado obtenido fue superior al de Méndez (2007) quién reportó 25.4% de RE en ovejas pelibuey suplementadas con glicerol ocho días antes del empadre durante la época de anestro estacional. La presencia de retornos a estros en las ovejas probablemente fue debido a fallas en la ovulación, fallas en la fecundación o a una temprana mortalidad embrionaria ocurrida antes de la regresión del cuerpo lúteo. También el uso de la inseminación artificial, a pesar de presentar diversas ventajas, si no se realiza adecuadamente puede contribuir a altos porcentajes de retornos al estro por el manejo del semen, el cual puede sufrir varios cambios al ser extraído, aumentando la probabilidad de tener menos espermatozoides viables para fecundar el óvulo. Sin embargo, a pesar de estas condiciones se espera tener mejores resultados, ya que el semen es depositado directamente en los cuernos uterinos de la hembra, demostrándose que haciéndolo

cuidadosamente puede tener resultados similares o iguales a los obtenidos por monta natural.

La tasa de gestación obtenida fue superior a la reportada por Méndez (2007), quien suplementó a ovejas de pelo con glicerol en la dieta y obtuvo 54% de ovejas gestantes.

El bajo valor de ovejas gestantes en los tratamientos pudiera deberse a varios factores externos como al semen fresco, por tratarse de un material menos protegido de factores externos tales como los cambios de temperatura, aun cuando las precauciones tomadas hayan evitado riesgos. Otros efectos en reacción a la inseminación artificial es que se corre el riesgo de inseminar ovejas donde, el ovulo liberado, ha perdido la capacidad de ser fecundado a ovejas que no han ovulado cuando se realiza la inseminación por la cual la fertilidad disminuye considerablemente.

Otros factores que pueden influir en la gestación son: defectos en el transporte de espermatozoides, la estación del año (Chimineau *et al.*, 1992), la edad del animal, tipo de semental (Martin y Bancharo, 1999), factores de estrés (Dobson y Smith, 2000), mala calidad del ovocito (Kusina *et al.*, 2000), presencia de folículos persistentes que hacen que haya ovocitos viejos que producen baja gestación (Stock y Fortune, 1993).

La prolificidad no presentó diferencias ($P > 0.05$) entre tratamientos obteniendo una media general de 1.13 corderos hembra parida¹. Tal variable está influenciada por la tasa ovulatoria, la cual puede aumentarse por medio de la alimentación dirigida (Downing y Scaramuzzi, 1991), aumentando el número de óvulos para ser fecundados e incrementar el número de corderos por parto; sin embargo, esto es contrario a lo que se observa en este estudio en donde no hubo diferencias entre tratamientos.

En general, los valores reportados con respecto a esta variable en ovejas de pelo son bajos. Combellas (1980) y Peron *et al.* (1991) resumieron varios estudios en climas tropicales y subtropicales usando ovejas Pelibuey y reportaron un promedio de 1.2 y 1.6 corderos hembra parida¹ respectivamente. Avendaño *et al.* (2005) obtuvieron una prolificidad de 2.5 corderos hembra parida¹ en el Norte de México durante dos años consecutivos en ovejas de pelo; tal resultado es superior al obtenido en el presente trabajo.

XVI. CONCLUSIÓN

Aplicar alimentación focalizada en la época de anestro estacional mediante la adición de G y GLU en la dieta no mejoró ninguna de las características reproductivas evaluadas en las ovejas.

XVII. BIBLIOGRAFÍA

1. Arroyo, J. 2011. Estacionalidad Reproductiva de la Oveja en México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 14: 829-845.
2. Arroyo, L. J., J. S. Gallegos, A. G. Villa, y J. Valencia. 2006. Sistemas neurales de retroalimentación durante el ciclo reproductivo anual de la oveja: Una revisión. *Interciencia*. 31: 8-15.
3. Arteaga, C.J.D. 2006. Situación actual de la ovinocultura y sus perspectivas. Memoria. Primera semana nacional de ovinocultura. Día demostrativo. El papel del mejoramiento genético en la producción de carne de ovino. Tulancingo, Hidalgo, México.
4. Avendaño, R. L, Álvarez V. F. D, Molina R. L, Rangel S. R, Correa C. A, Pérez M. A, Saucedo Q. J. S. 2005. Fertility, prolificacy and birth weights in crossbreds from Pelibuey sheep in two consecutive years. *Proceedings, Western Section, American Society of Animal Science*. Vol. 56. pp: 148-150.
5. Baguma-Nibasheka, M., J. Brenna T, and P. W. Nathanielsz. 1999. Delay of pre-term delivery in sheep by n-3 long chain polyinsaturates. *Biology Reproduction*. 60: 698-701.
6. Baird, D. T., I. Swanston, and R. J. Scaramuzzi. 1976. Pulsatile release of LH and secretion of ovarian steroids in sheep during the luteal phase of the estrous cycle. *Journal of Endocrinology*. 98: 1490-1496.
7. Bartlewski, P. M., A. P. Beard, and N. C. Rawlings. 1999. An ultrasonographic study of luteal function in breeds of sheep with different ovulation rates. *Journal of Theriogenology*. 52: 115-130.
8. Bartlewski, P. M., A. P. Beard, and N. C. Rawlings. 2000. An ultrasound-aided study of temporal relationships between the patterns of LH/FSH secretion, development of ovulatory-sized antral follicles and formation of corpora lutea in ewes. *Journal of Theriogenology*. 54: 229-245.

9. Bath, 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-localization with N-methyl-D-aspartate receptors. *Neuroendocrinology*. 62:187-197.
10. Bauman, D. E., J. W. Perfield II., M. J. Veth, and A. L. Lock. 2003. New perspectives on lipid digestion and metabolism in ruminants. *Proceeding Cornell Nutrient Conf.* pp: 175-189.
11. Blache, D. 2003. Balance de energía y reproducción en rumiantes: procesos endócrinos y neuroendócrinos. *Memorias de Fisiología de la Reproducción en Rumiantes*. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Estado de México, México. pp. 151-169.
12. Boland, M. P., P. Lonergan, and D. O`Callaghan. 2001. Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, and oocyte and embryo development. *Journal of Theriogenology*. 55: 1323-1340.
13. Bonavera, J.J., Kalra, S.P., 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.
14. Brann, D. W y Mahesh V. B. 2002. Excitatory Amino Acids: Function and Significance in Reproduction and Neuroendocrine Regulation. *Endocrinology*. 15: 3-49.
15. Brann, D.W y Mahesh V.B. 1995. Glutamate: a major neuroendocrine excitatory signal mediating steroid effects. *Journal Steroid Biochemistry Molecular Biology*. 53: 325-9.
16. Brann, D.W. 1995. Glutamate: a major excitatory transmitter in neuroendocrine regulation. *Neuroendocrinology*. 61:213-225.
17. Bulbarela, G. G. F. 2007. Efecto de la suplementación de L-arginina y aceite de pescado en el comportamiento reproductivo de ovejas de pelo. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Edo. de México, México. 61 p.

18. Camacho, J. H., A. L. J. Ricardo, K. V. J. Carlos, W. L. Gary, y Q. F. J. Alfredo. 2008. Respuesta ovulatoria, estado de desarrollo y calidad de embriones de ovejas Pelibuey superovuladas suplementadas con ácidos grasos poliinsaturados. *Técnica Pecuaria México*. 46(2):107-117.
19. Carriquiry, M., W. J. Weber, L. H. Baumgard, and B. A. Crooker. 2008. In Vitro biohydrogenation of four dietary fats. *Animal Feed and Technology*. 141:339-355.
20. Chemineau, P., Malpoux B., Delgadillo J.D., Guerin Y., Ravault J.P., Thimonier J., and Pelletier J: 1992. Control of sheep and goat reproduction: use of light and melatonin. *Animal Reproduction Science*. 30:157-184.
21. Cheng, Z., R. S. Robinson, P. G. A. Pushpakumara, R. J. Mansbridge, and D. C. Wathes. 2001. Effect of dietary polyunsaturated fatty acids on uterine prostaglandin synthesis in the cow. *Journal of Endocrinology*. 171: 463-473.
22. Church, D. C. 1993. *El Rumiante: Fisiología Digestiva y Nutrición*. Ed. Acribia. Zaragoza, España. 641 p.
23. Church, D. C. and W. G. Pond. 1998. *Basic Animal Nutrition and Feeding*. Third Edition. John Wiley & Sons. New York. USA. 472 p.
24. Clarke, I. J. 1988. Gonadotrophin-releasing hormone secretion (GnRH) in anoestrous ewes and the induction of GnRH surges by oestrogen. *Journal Endocrinology*. 17(3): 355-60.
25. Combellas, J. 1980. Production and reproduction parameters of tropical sheep breeds in improved production systems. *Tropical Animal Production*. 5:266-272.
26. Coop, I. E. 1996. Effect of flushing on reproductive performance of ewes. *Journal of Agriculture Science*. 67: 305-323.
27. Cuellar, O. J. A. 2003. *Perspectivas de la ovinocultura en México*. Memoria. Segundo seminario sobre la Producción Intensiva de ovinos. Villahermosa, Tabasco.

28. David, L. N., M. C. Michae, and M. C. Claudi. 2000. *Principios de Bioquímica*. Edición. Omega. Barcelona, España. 366 p.
29. Day, M. L., K. Imakawa, D. D. Zalesky, R. J. Kittok, and J. E. Kinder. 1986. Effects of restriction of dietary energy intake during the prepubertal period on secretion of luteinizing hormone and responsiveness of the pituitary to luteinizing hormone-releasing hormone in heifers. *Journal of Animal Science*. 62: 1641-1653.
30. Deep, D. V, and Parvizi N. 2001. Nitric oxide and the control of reproduction. Review. *Animal Reproduction Science*. 65: 1–16.
31. Demeyer, D., and M. Doreau. 1999. Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. *Proceeding Nutrition Society*. 58: 593-607.
32. Dixit, B. D, and N. Parvizi. 2001. Nitric oxide and the control of reproduction. Review. *Animal Reproduction Science*. 65: 1-16.
33. Dobson, J.M., and R.F. Smith. 2000. What is stress, and how does it affect reproduction. *Animal Reproduction Science*. 60-61: 743-752.
34. Doreau, M., and Y. Chilliard. 1997. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. *British Journal of Nutrition*. 78:515-535.
35. 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. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*. 43: 209-227.
36. Downing, J. A., J. Joss., P. Connell., R. J. Scaramuzzi. 1995. Ovulation rate and the concentrations of gonadotrophic and metabolic hormones in ewes feed lupin grain. *Journal of Reproduction and Fertility*. 103: 137-145.
37. Drackley, J. K. 1999. Biology of dairy cow during the transition period: The final frontier. *Journal of Dairy Science*. 82:2259-2273.
38. Driancourt, M. A. 2001. Regulation of ovarian follicular dynamics in farms animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology*. 55:1211-1239.

39. Dunn, T. G., and G. E. Moos. 1992. Effects of nutrient deficiencies and excesses on reproductive efficiency of livestock. *Journal of Animal Science*. 70: 1580-1593.
40. El-Ella, A. A. B. 2006. Response of Barki ewes to treatment with gonadotrophin hormones and energy supplementation (*Fhushing*). *Egyptian Journal of Sheep, Goat and Desert Animals Sciences*. 1(1): 73-88.
41. Ellen, I. C., S. Alexandra, V. Nicole, and R. Alexander. 2004. Arginine metabolism: enzymology, nutrition, and clinical significance. *Journal of Nutrition*. 134: 2752s-2759s.
42. Elliot, B. 2004. Fatty acids for dairy cows: more than just calories. *Research, Development and Technical Service*. pp. 33-44.
43. Espinoza, J. L., J. A. Ramírez-Godínez, J. Jiménez, A. Flores. 1995. Effects of calcium soaps of fatty acids on postpartum reproductive activity in beef cows and growth of calves. *Journal Animal Science*. 73: 2888-1892.
44. Espinoza, J. L., J. A. Ramírez-Godínez, S. S. Simental, J. Jiménez, A. Flores. 1998. Milk composition, postpartum reproductive activity and growth of lambs in Pelibuey ewes feed calcium soaps of long chain fatty acids. *Small Ruminant Research*. 27: 119-124.
45. Evans, A.C.O., P. Duffy, N. Hynes, and M. P. Boland. 2000. Waves follicle development during the estrous cycle in sheep. *Theriogenology*. 53:699-715.
46. Funston, R. N. 2004. Fat supplementation and reproduction in beef females. *Journal Animal Science*. 82(E. Suppl.): E154-E161.
47. Funston, R., and S. Filler. 2002. Effects of fat supplementation on reproduction in beef cattle. *In: The Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle Workshop. Proceeding*. Manhattan, Kansas. pp: 1-7.
48. Galvis, G. R. D., y C. H. Correa J. 2002. Interacciones entre el metabolismo y la reproducción en la vaca lechera: ¿es la actividad gluconeogénica el eslabón perdido?. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 15(1): 36-50.

49. García-Muriana, F. J. 2002. Metabolismo de los ácidos grasos. En: Libro blanco de los omega-3. Ed. Puleva Food. Granada.
50. García, E. 1998. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Ed. E. García. México. 194 p.
51. Gardner, D. S., A. S. Powlson, and D. A. Giussani. 2001. An in vivo nitric oxide clamp to investigate the influence of nitric oxide on continuous umbilical flow during acute hypoxaemia in the sheep fetus. *Journal of Physiology*. 537:587-596.
52. Ginther, O. J. 2000. Selection of the dominant follicle in cattle and horses. *Animal Reproduction Science* 60: 61-69.
53. Godfrey R. W, Collins J. R, Hensley E. L, Wheaton J. E. 1998. Estrus synchronization and artificial insemination of hair sheep ewes in the tropics. *Theriogenology*. (51): 985-997.
54. Gong, J. G., D. G. Armstrong, C. O. Baxter, P. C. Hogg, Garnsworthy, and R. Webb. 2002. The effect of increased dietary intake on superovulatory response to FSH in heifers. *Journal of Theriogenology*. 57: 1591-1602.
55. Goodman, R. L. 1994. Neuroendocrine control of the ovine estrous cycle. In: *Physiology of Reproduction*. Knobil, E., and J. D. Neill (Eds). Second Edition. Raven Press Ltd., New York, U. S. A. 3302 p.
56. Goodman, R. L., and F. J. Karsch. 1981. A critique of the evidence on the importance of steroid feedback to seasonal changes in gonadotrophin secretion. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*. 30: 1-13.
57. Goodman, R. L., E. L. Bittman, D. L. Foster, and F. J. Karsch. 1982. Alteration in the luteinizing hormone pulse frequency underlie the seasonal variation in estradiol negative feedback in the ewe. *Biology of Reproduction*. 27: 580-589.
58. Grossmann, A. B., Rossmanith, W., Kabigting, E., Cadd, G., Clifton, D., Steiner, R., 1994. The distribution of hypothalamic nitric oxide synthase mRNA in relation of gonadotrophin - releasing hormone neurons. *Journal. Endocrinol*. 140: R5–R8.

59. Grummer, R. G., J. C. Winkler, S. J. Bertics, V. A. Studer. 1994. Effect of propylene glycol dosage during feed restriction on metabolites in blood of prepartum Holstein heifers. *Journal of Dairy Science*. 77:3618-3623.
60. Grummer, R. R., and D. J. Carroll. 1991. Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle. *Journal Animal Science*. 69: 3838-3852.
61. Guilhermet, R. G. 1996. Functions nutritionnelles et metaboliques de l'arginine. *INRA Productions Animales*. 9:265-272.
62. Guoyao, W. 2009. Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. *Amino Acids*. 37:1-17. (a)
63. Guoyao, W., W. B. Fuller, A. D. Teresa, W. K. Sung, L. Peng, S. Carey, B. S. Stephen, E. S. Thomas, Y. Yulong. 2009. Arginine metabolism and nutrition in growth, health and disease. *Amino Acids*. 37:153-168.
64. Gutiérrez, A. C. 2001. Influencia de la nutrición en la reproducción. *In: Memorias del Seminario de Fisiología de la Reproducción en Rumiantes colegio de Postgraduados, Montecillo Edo. Mex.* pp: 155-166.
65. Hafez, E. S. E., y B. Hafez. 2002. Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. Séptima Edición. Mc Graw Hill Interamericana. México, D. F. 519 p.
66. Hafez, E. S. E., y B. Hafez. 2004. Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. Séptima edición. Mc-Graw-Hill Interamericana. México, D. F. 519 p.
67. Hamra, A. H., M. A. Fawzi, A. I. Dabbas, and T. A. Faisal. 2003. Effect of arginine supplementation on puberty and some reproductive traits in female Awassi sheep.
68. Hernández, M. J. M. 2009. L-arginina y su relación en la tasa ovulatoria en ovejas. Tesis de Maestría. Programa de Ganadería. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. de México, México. 52 p.

69. Hightshoe, R. B., R. C. Cochran, L. R. Corah, G. H. Kiracofe, D. L. Harmon, R. C. Perry. 1991. Effects of calcium soaps of fatty acids on postpartum reproductive function in beef cows. *Journal Animal Science*. 69: 4097-4103.
70. Honaramooz, A., S. J. Cook, A. P. Beard, P. M. Bartlewski, and N. C. Rawling. 1999. Nitric oxide regulation of gonadotrophin secretion in prepubertal heifers. *Journal of Neuroendocrinology*. 11:667-676.
71. Hsueh, A. J., H. Billig, and A. Tsafiriri. 1994. Ovarian follicle atresia: A hormonally controlled apoptotic process. *Endocrinology Review*. 15: 707-724.
72. Imakawa, K., R. J. Kittok, J. E. Kinder, B. D. Schanbacher, and D. D. Zalesky. 1986. Endocrine changes during restoration of oestrus cycles following induction of anestrus by restricted nutrient intake in beef heifers. *Journal of Animal Science*. 63: 565-571.
73. Jenkins, T. 1993. Caloric versus noncaloric considerations when feeding fat to dairy cattle. Department of Animal & Veterinary Science. Clemson University. Consultado en <http://www.asas.org/midwest/2003/03mabs.pdf> 5 noviembre 2006.
74. Jenkins, T. C., y D. L. Palmquist. 1984. Effect of fatty acids or calcium soaps on rumen and total nutrient digestibility of dairy rations. *Journal of Dairy Science*. 67: 978-986.
75. Kao, C., Schaeffer D. J., y Jackson G. L. 1992. Different neuroendocrine system modulate pulsatile luteinizing hormone secretion in photosuppressed and photorefractory ewes. *Biology of Reproduction*. 46: 425-434.
76. Karsch, F. J., E. L. Bittman, D. L. Foster, R. L. Goodman, S. J. Legan, and J. E. Robinson. 1984. Neuroendocrine basis of seasonal reproduction. *Recent Prog Horm Res*. 40: 185-232.
77. Karsch, F. J., G. E. Dahl, N. P. Evans, J. M. Manning, K. P. Mayfield, S. M. Moenter, D. L. Foster. 1993. Seasonal changes in gonadotrophin-releasing hormone secretion in the ewe. Alteration in response to the negative feedback action of estradiol. *Biology Reproduction*. 49: 1377-1383.

78. Karsch, F. J., Robinson J. E., Woodfill C. J. I., y Brown M. B. 1989. Circannual cycles of luteinizing hormone and prolactin secretion in ewes during prolonged exposure to a fixed photoperiod. Evidence for an endogenous reproductive rhythm. *Biology of Reproduction*. 41: 1034-1046.
79. Karsch, F. J., S. J. Legan, K. D. Ryan, and D. L. Foster. 1980. Importance of estradiol and progesterone in regulating LH secretion and estrous behavior during the sheep estrous cycle. *Biology of Reproduction*. 23: 404-413.
80. Kim, S. W, R. L. McPherson, and G. Wu. 2004. Dietary arginine supplementation enhances the growth of milk-feed young pigs. *Journal of Nutrition*. 134:625-630.
81. Kiyama, Z., B. M. Alexander, E. A. Van Kirk, W. J. Murdoch, D. M. Hallford, G. E. Moss. 2004. Effects of feed restriction on reproductive and metabolic hormones in ewe. *Journal Animal Science*. 82: 2548-2557.
82. Klara, K., G. P. Laszlo, A. Zvara, L. Hackler, G. Barcelo-Coblijn, Y. K. Yeo, and T. Farkas. 2002. The role of n-3 polyunsaturated fatty acids in brain: Modulation of rat brain gene expression by dietary n-3 fatty acids. *Institute of Biochemistry*. 99:2619-2624.
83. Kuran, M., A. G. Onal, J. J. Robinson, K. Mackie, B. K. Apeake, T. G. McEvoy. 1999. A dietary supplement of calcium soap of fatty acids enhances luteal function in sheep. *Journal Animal Science*. 69: 385-393.
84. Kusina, N. T., Tarwirei, F., Hamudikuwanda, H., Agumba, G., and J. A. Mukwena. 2000. Comparison of the effects of progesterone sponges and ear implants, PGF2alpha, and their combination on efficacy of estrous synchronization and fertility of masona goat does. *Theriogenology*. 53:1567-1580.
85. Kwon, H., G. Wu, C. J. Meininger, F. W. Bazer, and T. E. Spencer. 2004. Developmental changes in nitric oxide synthesis in the ovine placenta. *Biology of Reproduction*. 70:679-686.
86. Lehninger, A. L., D. L. Nelson, M. M. Cox. 1993. *Principios de Bioquímica*. Segunda Edición. Ed. Omega.

87. López, A. C. 2004. Supresión del efecto de dominancia folicular en protocolos de estimulación ovárica en ganado ovino mediante la administración de una dosis única de antagonista de GnRH. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España. 139 p.
88. Lozada, J. M., P. Lonergran, M. P. Boland, D. O'Callaghan. 2003. Influence of nutrition on the effectiveness of superovulation programmes in ewe: effect on oocyte quality and postfertilization development. *Reproduction*. 125: 543-553.
89. Lucy, M. C., R. L. De la Sota, C. R. Staples, and W. W. Thatcher. 1993. Ovarian follicular populations in lactating dairy cows treated with recombinant bovine somatotropin (sometribove) or saline and feed diets different in fat content and energy. *Journal Dairy Science*. 76: 1014-1027.
90. Malpaux, B., Daveau A. Maurice-Mandon, F., Duarte G., y Chemineau P. 1998. Evidence that melatonin acts in the premammillary hypothalamic area to control reproduction in the ewe: Presence of binding sites and stimulation of LH secretion by in situ microimplant delivery. *Endocrinology* 139: 1508-1516.
91. Malpaux, B., Robinson J., Brown M. B., y Karsch F. J. 1987. Reproductive refractoriness of the ewe to inductive photoperiod is not caused by inappropriate secretion of melatonin. *Biology of reproduction*, 36: 1333-1341.
92. Manser, R. C., H. J. Leese, and F. D. Houghton. 2004. Effect of inhibiting nitric oxide production on mouse preimplantation embryo development and metabolism. *Biology of Reproduction*. 71:528-533.
93. Mark, P. G., L. D. Spate, T. E. Parks, K. Kimura, C. N. Murphy, J. E. Williams, M. S. Kerley, J. A. Green, D. H. Keisler, and R. M. Roberts. 2008. Nutritional skewing of conceptus sex in sheep: effects of a maternal diet enriched in rumen-protected polyunsaturated fatty acids (PUFA). *Reproductive Biology and Endocrinology*. 6:1-11.

94. Martin, B. G., y H. G. Banchemo. 1999. Nutrición y reproducción en rumiantes. In: Memorias del Primer curso Internacional de Fisiología de Reproducción de Rumiantes. 8, 9 y 10 de septiembre. Montecillos México. P. 27-58.
95. Martin, G. B., Milton, J. T., Davidson, R. H., Banchemo Hunzicker, G. E., Lindsay, D. R., Blache, D. 2004. Natural methods for increasing reproductive efficiency in small ruminants. *Animal Reproduction Science*. 82-83:231-245.
96. Martin, M. B. 2005. Métodos limpios, verdes y éticos para aumentar la eficiencia reproductiva en pequeños rumiantes. *In: Memorias de Reproducción en Rumiantes*. Colegio de Postgraduados, Montecillos, Estado de México. 1-15 p.
97. Martínez, M. L. A., y C. F. Sánchez. 1999. Alimentación y reproducción en vacas lecheras. *Mundo Ganadero*. El mensual Mundo Ganadero. Editorial. Eumedia, S.A. en Madrid, España. 5 p.
98. Martínez, T. V. M. 2004. Efecto del tratamiento con una solución glucogénica oral sobre la tasa de ovulación en ovejas Pelibuey. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México, México. 107 p.
99. Masataka, M., and G. Tomomi. 2004. Arginine metabolic enzymes, nitric oxide and infection. *Journal of Nutrition*. 2820s-2825s.
100. Mateo, R. D., W. Guoyao, W. B. Fuller, C. P. Jun, I. Shinzato. 2007. L-Arginine supplementation enhances the reproductive performance of gilts. *Journal of Nutrition*. 137:652-656.
101. Matsumi, H., Koji, T., Yano, M., Yano, N., Tsutsumi, O., Momoeda, M., Osuga, Y., Taketani, Y., 1998. Evidence for an inverse relationship between apoptosis and inducible nitric oxide synthase expression in rat granulosa cells. A possible role of nitric oxide in ovarian follicle atresia. *Journal Endocrinology*. 45: 745-751.

102. Mattos, R., C. R. Staples, A. Arteché, M. C. Wilbank, F. J. Diaz, T. C. Jenkins, and W. W. Thatcher. 2004. The effects of feeding fish oil on uterine secretion of $\text{PGF}_{2\alpha}$, milk composition, and metabolic status of periparturient Holstein cows. *Journal Dairy Science*. 87: 921-932.
103. Mattos, R., G. Aydin, B. Lokenga, R. S. Charles, and W. T. Williams. 2003. Polyunsaturated fatty acids and bovine interferon- γ modify phorbol ester-induced secretion of prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$ and expression of prostaglandin endoperoxide synthase-2 and phospholipase- A_2 in bovine endometrial cell. *Biology of Reproduction*. 69: 780-787.
104. Mattos, R., Staples, C. R., Thatcher, W. W. 2000. Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminants. *Journal of Reproduction and Fertility*. 5:38-45.
105. McDonald, J. W. y Johnstone M. V. 1990. Physiological and Pathophysiological roles of excitatory amino acids during central nervous system development. *Brain Research Review*. 15:41-70.
106. Méndez, C. R. 2007. Parámetros reproductivos en ovejas de pelo en la época de anestro y reproductiva suplementadas con glicerol. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México, México. 103 p.
107. Meza-Herrera, C. A., Salinas-González, H. y Mellado-Bosque, M. 2005. Aminoácidos Neuroexcitadores y función ovárica en cabras: Efecto en el perfil de hormonas gonadotrópicas y metabólicas. In: *Fisiología de la Reproducción en Rumiantes*. Colegio de Postgraduados. Km. 36.5 carretera federal México-Texcoco, Montecillo Estado de México. pp: 313-325.
108. Meza-Herrera, C. A., López A. D., Chávez P., Salinas H., Valencia M and Mellado M. 2002. Influence of nutrition on ovarian activity in goats. I. Effect of fat by-pass supplementation. *Journal Animal Science*. 80 (Suppl. 1): 193.

109. Monniaux, D., P. Monget, N. Besnard, C. Huet, and C. Pisselet. 1996. Growth factors and antral follicular development in domestic ruminants. *Theriogenology*. 47: 3-12.
110. Muñoz-Gutiérrez, M., D. Blache, G. B. Martin, R. J. Scaramuzzi. 2004. Ovarian follicular expression of mRNA encoding the type I insulin like growth factor receptor (IGF-IR) and insulin like growth factor binding protein 2 (IGFBP2) in anestrus sheep after 5 days of glucose or glucosamine or supplementary feeding with lupin grain. *Reproduction*. 128: 1-11.
111. Murray, R. K., P. A. Mayes, D. K. Granner, V. W. Rodwell. 2001. *Bioquímica de Harper*. Ed. El Manual Moderno. Santafé de Bogotá.
112. Nalbandov, A. V. 1969. *Fisiología de la Reproducción*. Editorial. Acribia. Zaragoza, España. 303 p.
113. O'Callaghan, D., and M. P. Boland. 1999. Nutritional effects on ovulation, embryo development and the establishment of pregnancy in ruminants. *Journal of Animal Science*. 68: 299-314.
114. Ortiz, O. J., Pacheco, R. J., Ojeda, M. C. 2000. Crecimiento corporal de machos y hembras Pelibuey a través de medidas zoométricas. *Memorias de Ciclo de Conferencias Sobre Evaluación, Comercialización y Mejoramiento Genético*. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México. 76 p.
115. Palmquist, D. L, and T. C. Jenkins. 1980. Fat in lactation rations: review. *Journal Dairy Science*. 63:1-14.
116. Perón, N., Limas T. y Fuentes J. L. 1991. El ovino Pelibuey de Cuba. Revisión bibliográfica de algunas características productivas. *Rev. Mundial Zootecnia*. 66:32-39.
117. Pickett, M. M., M. S. Piepenbrink, T. R. Overton. 2003. Effects of propylene glycol or fat drench on plasma metabolites, liver composition, and production of dairy cows during the periparturient period. *Journal Dairy Science*. 86: 2113-2121.

- 118.Platt, S. R. 2007. The role of glutamate in central nervous system health and disease. A review. *The Veterinary Journal*. 173 (2007) 278–286.
- 119.Porras, A. A., Zarco Q. L. A, Valencia M. J. 2003. Estacionalidad Reproductiva en Ovejas. *Ciencia Veterinaria*. 34 pp.
- 120.Randel, R. D. 1990. Nutrition and postpartum rebreeding in cattle. *Journal of Animal Science*. 68: 853-862.
- 121.Rawlings, N. C., and S. J. Cook. 1993. LH secretion around the time of the preovulatory gonadotrophin surge in the ewe. *Animal Reproduction Science*. 30: 289-99.
- 122.Rhind, I. D., R. J. Leslie, R. J. Gunn, and J. M. Doney. 1985. Plasma FSH, LH, Prolactin and Progesterone profiles of Cheviot ewes with different levels of intake before and after mating, and associated effects on reproductive performance. *Animal Reproduction Science*. 8: 301-313.
- 123.Ricciardolo, F. L. M. 2004. Nitric oxide in health and disease of the respiratory system. *American Physiological Society*. 84: 731-765.
- 124.Rizos, D., D. A. Kenny, W. Griffin, K. M. Quinn, P. Duffy, F. J. Mulligan, J.F. Roche, M.P. Boland, P. Lonergan. 2008. The effect of feeding propylene glycol to dairy cows during the early postpartum period on follicular dynamics and on metabolic parameters related to fertility. *Theriogenology*. 69: 688-699.
- 125.Robinson, J. E., and F. J. Karsch. 1984. Refractoriness to inductive day lengths terminates the breeding season of the Suffolk ewe. *Biology Reproduction*. 31: 656-663.
- 126.Robinson, J. J. 1990. Nutrition in the reproduction of farm animals. *Nutrition Research*. 3: 253-261.
- 127.Robinson, J. J. 1996. Nutrition and reproduction. *Animal Reproduction Science*. 42: 25-34.

128. Robinson, R. S., P. G. A. Pushpakumara, Z. Cheng, A. R. Peters, D. R. E. Abayasekara, and D. C. Wathes. 2002. Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on ovarian and uterine function in lactating dairy cow. *Reproduction*. 124: 119-131.
129. Rosell, P. R. 2004. Regulación Neuroendocrina del Ciclo Estral de los Animales Domésticos. *Revista electrónica de Veterinaria REDVET*. 5 (7).
130. Rubianes, E. 2000. Avances en el conocimiento de la fisiología ovárica de los pequeños rumiantes y su aplicación para el manejo reproductivo. *In: Actas de Fisiología*. Departamento de fisiología, Facultad de Veterinaria y Departamento de Producción Animal y Pasturas, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. pp: 93-103.
131. Russel, A. J. F., Doney, J. M., Gunn, R. G. 1969. Subjective assessment of body fat in live sheep. *Journal of Agricultural Sciences*. 72:451-454.
132. Salomón, S. 1990. *Inseminación Artificial de Ovejas y Cabras*. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 158 pp.
133. Sano, H., S. Nakamura, S. Kobayashi, H. Takahashi, and Y. Terashima. 1995. Effect of cold exposure on profiles of metabolic and endocrine responses and on responses to feeding and arginine injection in sheep. *Journal of Animal Science*. 73:2054-2062.
134. SAS. 2001. *S.A.S. Users Guide: Statistics*. SAS institute Inc., Cary, N.C.
135. Scaramuzzi, R. J., B. K. Campbell, J. A. Downing, N. R. Kendall, M. Khalid, M. Muñoz-Gutiérrez, A. Somchit. 2006. A Review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. *Reproduction Nutrition Development*. 46: 339-354.
136. Scaramuzzi, R. J., J. F. Murray, J. A. Downing, B. K. Campbell. 1999. The effects of exogenous growth hormone on follicular steroid secretion and ovulation rate in sheep. *Domestic Animal Endocrinology*. 17: 269-277.

- 137.Schillo, K. K. 1992. Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. *Journal of Animal Science*. 70: 1271-1282.
- 138.Senger, P. L. 2003. *Pathways to pregnancy and parturition*. Segunda Edición. Capítulo 2. 10-41 pp.
- 139.SIAP. (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2009. Número de cabezas, producción, precio y valor de cabezas sacrificadas. En: <http://www.siap.gob.mx/>.
- 140.Siasos, G, Tousoulis D, Antoniadis C, Stefanadi E, 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.
- 141.Smith, J. F. 1988. Influence of nutrition on ovulation rate in the ewe. *Australian Journal of Biology Research*. 41: 27-34.
- 142.Staples, C. R., and W. W. Thatcher. 1999. Nutrient influences on reproduction of dairy cows. *In: Animal Sciences Dept, Universidad de Florida*. Pp. 21-35.
- 143.Staples, C. R., J. M. Burke, and W. W. Thatcher. 1998. Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. *Journal Dairy Science*. 81: 856-871.
- 144.Staples, C., R. Mattos, S. Boken, L. Sollenberge, W. Thatcher, and T. Jenkins. 2002. Feeding fatty acids for fertility?. *In: Proceedings of 13th Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium*. Pp. 71-85.
- 145.Stewart, R. 1990. The effect of nutrition on the ovulation rate of the ewe. *Doctoral Thesis*. Department of Animal Science, University of Western Australia. 206 p.
- 146.Stock, A. E., y Fortune, J. E. 1993. Ovarian Follicular Dominance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. *Endocrinology*. 132: 1108-1114.

147. Tamanini, C., G. Basini, F. Grasselli, and M. Tirelli. 2003. Nitric oxide and the ovary. *Journal of Animal Science*. 78:2369-2375.
148. Thatcher, W. W., C. R. Staples, G. Danet-Desnoyers, B. Oldick, and E. P. Schmitt. 1994. Embryo health and mortality in sheep and cattle. *Journal of Animal Science*. 72 (Suppl. 3):16
149. Thomas, M. G., B. Bao, and G. L. Williams. 1997. Dietary fats varying in their fatty acid composition differentially influence follicular growth in cows fed isoenergetic diets. *Journal of Animal Science*. 75: 2512-2519.
150. Urbanski, H. F. 1990. A role for N-methyl-D-aspartate receptors in the control of seasonal breeding. *Endocrinology*. 126: 1774-1776.
151. Urbanski, H. K., Fahy M. M., Daschel, M. y Mashul, C. 1994. N-methyl-D-aspartate receptor gene expression in the amster hypothalamus and in immortalized luteinizing hormone-releasing hormone neurons. *Journal of Reproduction and Fertility*. 100: 5-9.
152. Vannevel, C. J., and D. I. Demeyer. 1996. Influence of pH on biohydrogenation of polyunsaturated fatty acids and their Ca-salts by microorganisms in vitro. *Archives of Animal Nutrition*. 49: 151-158.
153. Van Cleeff, J., G. E. Dahl, N. P. Evans, F. J. Karsch, and V. Padmanabhan. 1995. Existence of a GnRH-independent component of episodic FSH release in the natural luteal phase ewe. *Journal of Reproduction and Fertility*. 89: 643-53.
154. Viñoles, C. 2000. Some aspects on the effects of estrous synchronization treatments on ovarian dynamics in the cyclic ewe. Licentiate Thesis 86. Uppsala, Sweden: Department of Clinical Chemistry, Swedish University of Agricultural Sciences, Faculty of Veterinary Medicine.
155. Viñoles, C. 2003. Effect of nutrition on follicle development and ovulation rate in the ewe. Doctoral Thesis. Department of Clinical Chemistry, Swedish University of Agricultural Sciences, Faculty of Veterinary Medicine. Sweden. 56 p.

156. Viñoles, C., Forsberg, M., Martin, G. B., Cajarville, C., Repetto, J., Meikle, A. 2004. Short-term nutritional supplementation of ewes in low body condition affects follicle development due to an increase in glucose and metabolic hormones. *Journal of Reproduction and Fertility*. 129: 299-309.
157. Viñoles, C., M. Forsberg, G. B. Martin, C. Cajarville, J. Repetto, and A. Meikle. 2005. Short-term nutritional supplementation of ewes in low body condition affects follicle development due to an increase in glucose and metabolic hormones. *Society for Reproduction and Fertility*. 129: 299-309.
158. Viñoles, C., M. Forsberg, G. Banchemo, and E. Rubianes. 2001. Effect of long term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Journal of Theriogenology*. 42: 381-342.
159. Viñoles, C., M. Forsberg, G. Banchemo, and E. Rubianes. 2002. Ovarian follicular dynamics and endocrine profiles in Polwarth ewes with high and low body condition. *Journal of Animal Science*. 74: 539-545.
160. Wathes D. C., D. E. Robert, and R. J. Aitken. 2007. Polyunsaturated fatty acids in male and female reproduction. *Biology of Reproduction*. 77: 190-201.
161. Webb, R., B. K. Campbell, H. A. Garverick, J. G. Gong, C. G. Gutierrez and D. G. Armstrong. 1999. Molecular mechanism regulating follicular recruitment and selection. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*. 54: 33-48.
162. Webb, R., P. C. Garnsworthy, J. G. Gong, and D. G. Armstrong. 2004. Control of follicular growth: Local interactions and nutritional influences. *Journal of Animal Science Supplement*. 82: E63-E74.
163. Wehrman, M. E., G. L. Williams. 1989. Effect of dietary lipid intake on serum and ovarian follicular lipid metabolites and follicular populations in beef females. *Journal Animal Science*. 67 (Suppl) 59 (Abstr).
164. Williams, G. L., and R. L. Stanko. 1999. Dietary fats as reproductive nutraceuticals in beef cattle. *In: American Society of Animal Science Proceeding*. pp: 1-12.

165. Williams, G. L., and R. L. Stanko. 2000. Dietary fats as reproductive nutraceuticals in beef cattle. *Journal Animal Science*. 77: 1-12.
166. Wu, G., A. G. Borbolla, and D. A. Knabe. 1994. The uptake of glutamine and release of arginine, citrulline and proline by the small intestine of developing pigs. *Journal of Nutrition*. 124:2437-2444.
167. Wu, G. 1998. Intestinal mucosal amino acid catabolism. *Journal of Nutrition*. 128:1249-1252.
168. Wu, G., and S. M. Morris, Jr. 1998. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *Journal Biochemistry*. 336:1-17.
169. Yamauchi, J., Miyazaki, T., Iwasaki, S., Kishi, I., Kuroshima, M., Tei, C., Yoshimura, Y. 1997. Effects of nitric oxide on ovulation, ovarian steroidogenesis and prostaglandin production in the rabbit. *Endocrinology*. 138: 3630–3637.
170. Yoshimura, Y., M. Iwashita, M. Karube, T. Oda. M. Akiba. S. Shiokawa, M. Ando, A. Yoshinaga, and Y. Nakamura. 1994. Growth hormone stimulates follicular development by stimulating ovarian production of insulin-like growth factor-I. *Endocrinology*. 135: 887-894.
171. Zeron, Y., D. Sklan, and A. Arav. 2002. Effect of polyunsaturated fatty acid supplementation on biophysical parameters and chilling sensitivity of ewe oocytes. *Molecular Reproduction and Development*. 61:271-278.

XVIII. ANEXOS

Corrida estadística del experimento, donde se suplemento glicerol, aceite de pescado y L-arginina.

data datos1;

input id rep tr estro tv retor gest prol gli pes arg;

cards;

282	1	1	1	2	0	1	2	0	0	0
313	2	1	1	2	0	1	3	0	0	0
273	3	1	1	1	0	1	2	0	0	0
292	4	1	1	1	0	1	1	0	0	0
209	5	1	1	1	0	1	2	0	0	0
294	6	1	1	2	0	1	2	0	0	0
293	7	1	1	1	0	1	2	0	0	0
227	8	1	1	2	1	0	0	0	0	0
246	9	1	1	1	0	1	1	0	0	0
171	10	1	1	1	1	0	0	0	0	0
341	11	1	1	1	1	0	0	0	0	0
245	12	1	1	.	1	0	0	0	0	0
187	13	1	1	2	1	0	0	0	0	0
196	14	1	1	2	0	1	1	0	0	0
323	15	1	1	1	1	0	0	0	0	0
207	16	1	1	.	1	0	0	0	0	0
180	17	1	1	1	0	1	2	0	0	0
193	18	1	0	0	0	0	0	0	0	0
309	19	1	1	1	0	1	2	0	0	0
304	20	1	1	2	0	1	2	0	0	0
344	21	1	1	1	0	1	2	0	0	0
286	1	2	1	1	1	0	0	100	0	0
192	2	2	1	1	1	0	0	100	0	0
185	3	2	1	2	0	1	2	100	0	0
357	4	2	1	2	0	1	4	100	0	0
236	5	2	1	1	1	0	0	100	0	0
223	6	2	1	2	1	0	0	100	0	0
266	7	2	1	2	0	1	1	100	0	0
269	8	2	1	2	0	1	3	100	0	0

199	9	2	1	2	0	1	2	100	0	0
204	10	2	1	2	0	1	1	100	0	0
197	11	2	1	2	0	1	2	100	0	0
324	12	2	1	1	0	1	2	100	0	0
373	13	2	1	1	0	1	1	100	0	0
228	14	2	1	1	1	0	0	100	0	0
377	15	2	1	1	0	1	2	100	0	0
153	16	2	1	1	0	1	1	100	0	0
295	17	2	1	2	0	1	2	100	0	0
263	18	2	1	1	0	1	1	100	0	0
278	19	2	1	1	0	1	2	100	0	0
244	20	2	1	2	0	1	3	100	0	0
356	21	2	1	1	0	1	3	100	0	0
260	1	3	1	2	0	1	2	0	70	0
289	2	3	1	2	0	1	3	0	70	0
163	3	3	1	1	0	1	1	0	70	0
157	4	3	1	1	1	0	0	0	70	0
255	5	3	1	2	0	1	2	0	70	0
320	6	3	1	1	0	1	3	0	70	0
279	7	3	1	2	0	1	2	0	70	0
283	8	3	1	1	0	1	4	0	70	0
189	9	3	1	2	0	1	2	0	70	0
321	10	3	1	1	0	1	1	0	70	0
256	11	3	1	2	1	0	0	0	70	0
190	12	3	1	2	1	0	0	0	70	0
307	13	3	1	1	0	1	2	0	70	0
342	14	3	1	1	0	1	1	0	70	0
301	15	3	1	2	0	1	3	0	70	0
226	16	3	1	2	1	0	0	0	70	0
316	17	3	1	1	0	1	1	0	70	0
265	18	3	1	1	0	1	2	0	70	0
308	19	3	1	2	0	1	1	0	70	0
164	20	3	1	1	1	0	0	0	70	0
172	1	4	1	2	1	0	0	0	0	3
312	2	4	1	2	0	1	2	0	0	3
214	3	4	1	1	1	0	0	0	0	3
398	4	4	1	1	0	1	2	0	0	3
247	5	4	1	2	1	0	0	0	0	3
166	6	4	1	2	0	1	2	0	0	3

300	7	4	1	2	0	1	1	0	0	3
249	8	4	1	2	1	0	0	0	0	3
211	9	4	1	1	1	0	0	0	0	3
336	10	4	1	1	0	1	2	0	0	3
319	11	4	1	1	1	0	0	0	0	3
167	12	4	1	2	1	0	0	0	0	3
221	13	4	1	1	0	1	2	0	0	3
229	14	4	1	2	1	0	0	0	0	3
298	15	4	1	2	0	1	2	0	0	3
302	16	4	1	1	0	1	2	0	0	3
248	17	4	1	1	0	1	3	0	0	3
271	18	4	1	2	0	1	2	0	0	3
195	19	4	1	2	0	1	2	0	0	3
317	20	4	1	1	0	1	2	0	0	3
268	21	4	1	1	0	1	2	0	0	3
290	1	5	1	2	1	0	0	100	70	0
276	2	5	1	1	1	0	0	100	70	0
233	3	5	1	2	1	0	0	100	70	0
6626	4	5	1	2	1	0	0	100	70	0
174	5	5	1	2	1	0	0	100	70	0
6624	6	5	1	1	0	1	1	100	70	0
200	7	5	1	1	0	1	4	100	70	0
314	8	5	1	1	0	1	2	100	70	0
243	9	5	1	2	0	1	3	100	70	0
206	10	5	1	1	1	0	0	100	70	0
155	11	5	1	1	1	0	0	100	70	0
188	12	5	1	2	0	1	2	100	70	0
354	13	5	1	1	0	1	1	100	70	0
205	14	5	1	1	1	0	0	100	70	0
182	15	5	1	1	0	1	4	100	70	0
218	16	5	1	1	1	0	0	100	70	0
367	17	5	1	1	0	1	1	100	70	0
280	18	5	1	2	0	1	2	100	70	0
251	19	5	1	2	0	1	1	100	70	0
281	20	5	1	1	1	0	0	100	70	0
277	21	5	1	1	0	1	2	100	70	0
173	1	6	1	1	0	1	1	100	0	3
305	2	6	1	1	0	1	2	100	0	3
178	3	6	1	1	0	1	2	100	0	3

297	4	6	1	2	0	1	2	100	0	3
254	5	6	1	1	0	1	2	100	0	3
261	6	6	1	1	1	0	0	100	0	3
177	7	6	1	.	1	0	0	100	0	3
2938	8	6	1	2	0	1	4	100	0	3
220	9	6	1	2	1	0	0	100	0	3
154	10	6	1	1	0	1	2	100	0	3
150	11	6	0	0	0	0	0	100	0	3
349	12	6	1	1	1	0	0	100	0	3
258	13	6	1	2	1	0	0	100	0	3
274	14	6	1	1	1	0	0	100	0	3
238	15	6	1	1	0	1	2	100	0	3
222	16	6	1	1	1	0	0	100	0	3
6647	17	6	1	2	0	1	1	100	0	3
159	18	6	1	2	0	1	3	100	0	3
288	19	6	0	0	0	0	0	100	0	3
291	20	6	1	1	0	1	2	100	0	3
332	21	6	1	1	1	1	0	100	0	3
6615	1	7	1	2	0	1	3	0	70	3
299	2	7	1	1	0	1	3	0	70	3
326	3	7	1	2	1	0	0	0	70	3
310	4	7	1	2	0	1	1	0	70	3
259	5	7	1	1	0	1	3	0	70	3
353	6	7	1	1	0	1	1	0	70	3
253	7	7	1	1	0	1	1	0	70	3
327	8	7	1	1	1	0	0	0	70	3
371	9	7	1	1	0	1	2	0	70	3
329	10	7	1	1	0	1	2	0	70	3
262	11	7	1	1	0	1	2	0	70	3
215	12	7	1	1	0	1	2	0	70	3
296	13	7	1	1	1	0	0	0	70	3
318	14	7	1	1	0	1	2	0	70	3
267	15	7	1	2	1	0	0	0	70	3
158	16	7	1	1	0	1	2	0	70	3
272	17	7	1	1	0	1	1	0	70	3
212	18	7	1	1	0	1	3	0	70	3
270	19	7	1	1	0	1	2	0	70	3
338	20	7	1	1	1	0	0	0	70	3
303	21	7	1	1	1	0	0	0	70	3

169	1	8	1	1	1	0	0	100	70	3
234	2	8	1	1	0	1	1	100	70	3
225	3	8	1	1	1	0	0	100	70	3
191	4	8	1	2	0	1	1	100	70	3
194	5	8	1	1	0	1	2	100	70	3
210	6	8	1	2	1	0	0	100	70	3
198	7	8	1	1	1	0	0	100	70	3
181	8	8	1	1	0	1	2	100	70	3
224	9	8	1	2	0	1	2	100	70	3
370	10	8	1	2	1	0	0	100	70	3
335	11	8	1	1	0	1	2	100	70	3
264	12	8	1	1	0	1	2	100	70	3
330	13	8	1	2	0	1	2	100	70	3
306	14	8	1	2	0	1	1	100	70	3
203	15	8	1	1	0	1	2	100	70	3
322	16	8	1	1	0	1	2	100	70	3
201	17	8	1	1	0	1	1	100	70	3
2899	18	8	1	1	1	0	0	100	70	3
252	19	8	1	2	0	1	1	100	70	3
274	20	8	1	1	0	1	3	100	70	3
186	21	8	1	1	1	0	0	100	70	3

;

*proc print;

run;

*proc logistic;

model gest = gli pes arg gli*pes gli*arg pes*arg gli*pes*arg;

run;

*proc genmod;

model tv = tr/dist=negbin;

run;

*proc genmod;

model tv= gli pes arg gli*pes gli*arg pes*arg gli*pes*arg/dist=negbin;

run;

Corrida estadística del experimento donde se suplemento glicerol y L-glutamina.

data datos;

input id rep tr estro retor gest prol gli glut;

cards;

226	1	1	1	0	1	3	0	0
336	2	1	1	0	1	2	0	0
221	3	1	1	0	1	2	0	0
427	4	1	1	0	1	2	0	0
566	5	1	1	0	1	1	0	0
164	6	1	1	1	0	0	0	0
548	7	1	1	0	1	1	0	0
333	8	1	1	0	1	2	0	0
189	9	1	1	0	1	2	0	0
712	10	1	1	1	0	0	0	0
292	11	1	1	0	1	2	0	0
484	12	1	1	0	1	2	0	0
153	13	1	1	1	0	0	0	0
422	14	1	1	0	1	1	0	0
713	15	1	1	1	0	0	0	0
711	16	1	1	0	1	2	0	0
375	17	1	1	1	0	0	0	0
307	18	1	1	1	0	0	0	0
520	19	1	1	0	1	2	0	0
205	20	1	1	1	0	0	0	0
331	21	1	1	1	0	0	0	0
264	22	1	1	1	0	0	0	0
200	23	1	1	1	0	0	0	0
446	24	1	1	0	1	4	0	0
708	25	1	1	1	0	0	0	0
360	26	1	1	0	1	1	0	0
727	27	1	1	0	1	2	0	0
416	28	1	1	1	0	0	0	0
456	29	1	1	0	1	1	0	0
730	30	1	0	0	0	0	0	0
731	31	1	1	0	1	2	0	0
396	32	1	1	1	0	0	0	0
767	33	1	1	1	0	0	0	0
263	34	1	1	0	1	1	0	0

674	35	1	1	1	0	0	0	0
441	36	1	1	0	1	2	0	0
332	37	1	1	1	0	0	0	0
402	38	1	1	0	1	1	0	0
251	39	1	1	1	0	0	0	0
744	40	1	1	1	0	0	0	0
395	41	1	1	0	1	2	0	0
519	42	1	1	0	1	1	0	0
400	43	1	1	0	1	1	0	0
737	44	1	1	1	0	0	0	0
698	45	1	1	0	1	1	0	0
299	46	1	1	1	0	0	0	0
169	47	1	1	1	0	0	0	0
436	48	1	1	1	1	2	0	0
677	1	2	1	0	1	2	100	0
327	2	2	1	0	1	2	100	0
476	3	2	1	0	1	2	100	0
319	4	2	1	1	0	0	100	0
198	5	2	1	0	1	3	100	0
371	6	2	1	0	1	2	100	0
572	7	2	1	0	1	2	100	0
551	8	2	1	1	0	0	100	0
398	9	2	1	1	0	0	100	0
421	10	2	1	0	1	1	100	0
771	11	2	1	0	1	2	100	0
716	12	2	1	1	0	0	100	0
538	13	2	1	0	1	1	100	0
573	14	2	1	0	1	2	100	0
491	15	2	1	1	0	0	100	0
714	16	2	1	1	0	0	100	0
482	17	2	1	1	0	0	100	0
632	18	2	1	0	1	1	100	0
718	19	2	1	0	1	2	100	0
541	20	2	1	1	0	0	100	0
581	21	2	1	0	1	2	100	0
719	22	2	1	0	1	2	100	0
715	23	2	1	0	1	2	100	0
138	24	2	1	1	0	0	100	0
233	25	2	1	0	1	2	100	0

449	26	2	1	1	0	0	100	0
428	27	2	1	0	1	2	100	0
278	28	2	1	1	0	0	100	0
433	29	2	1	1	0	0	100	0
245	30	2	1	1	0	0	100	0
702	31	2	1	1	0	0	100	0
733	32	2	1	0	1	1	100	0
577	33	2	1	0	1	1	100	0
303	34	2	1	0	1	1	100	0
315	35	2	1	0	1	2	100	0
704	36	2	1	0	1	2	100	0
515	37	2	1	0	1	1	100	0
768	38	2	1	0	1	2	100	0
511	39	2	1	0	1	2	100	0
423	40	2	1	1	0	0	100	0
507	41	2	1	0	1	2	100	0
518	42	2	1	1	0	0	100	0
745	43	2	1	1	0	0	100	0
746	44	2	1	0	1	2	100	0
202	45	2	1	0	1	2	100	0
193	46	2	1	1	0	0	100	0
450	1	3	1	0	1	2	0	50
408	2	3	1	1	0	0	0	50
556	3	3	1	1	0	0	0	50
314	4	3	1	0	1	3	0	50
560	5	3	1	0	1	1	0	50
722	6	3	1	0	1	2	0	50
434	7	3	1	0	1	2	0	50
255	8	3	1	1	0	0	0	50
372	9	3	1	1	0	0	0	50
267	10	3	1	0	1	2	0	50
322	11	3	1	0	1	1	0	50
438	12	3	1	0	1	1	0	50
720	13	3	1	0	1	2	0	50
270	14	3	1	0	1	1	0	50
248	15	3	1	1	0	0	0	50
769	16	3	1	0	1	2	0	50
431	17	3	1	0	1	2	0	50
471	18	3	1	0	1	3	0	50

316	19	3	1	0	1	4	0	50
454	20	3	1	0	1	2	0	50
721	21	3	1	1	0	0	0	50
435	22	3	1	0	1	2	0	50
499	23	3	1	0	1	3	0	50
502	24	3	1	1	0	0	0	50
391	25	3	1	0	1	1	0	50
418	26	3	1	0	1	2	0	50
728	27	3	1	0	1	2	0	50
729	28	3	1	1	0	0	0	50
386	29	3	1	0	1	1	0	50
576	30	3	1	1	0	0	0	50
293	31	3	1	1	0	0	0	50
300	32	3	1	0	1	1	0	50
397	33	3	1	0	1	2	0	50
735	34	3	1	0	1	3	0	50
736	35	3	1	1	0	0	0	50
392	36	3	1	1	0	0	0	50
252	37	3	1	1	0	0	0	50
227	38	3	1	0	1	3	0	50
741	39	3	1	0	1	2	0	50
445	40	3	1	1	0	0	0	50
195	41	3	1	0	1	2	0	50
749	42	3	1	0	1	2	0	50
513	43	3	1	1	0	0	0	50
549	44	3	1	0	1	1	0	50
751	45	3	1	0	1	2	0	50
770	46	3	1	0	1	2	0	50
557	1	4	1	1	0	0	100	50
312	2	4	1	0	1	2	100	50
369	3	4	1	0	1	2	100	50
529	4	4	1	1	0	0	100	50
404	5	4	1	0	1	2	100	50
329	6	4	1	1	0	0	100	50
542	7	4	1	0	1	1	100	50
311	8	4	1	0	1	3	100	50
495	9	4	1	0	1	3	100	50
155	10	4	1	0	1	2	100	50
726	11	4	1	1	0	0	100	50

725	12	4	1	0	1	2	100	50
724	13	4	1	0	1	3	100	50
468	14	4	1	0	1	3	100	50
646	15	4	1	1	0	0	100	50
528	16	4	1	0	1	2	100	50
448	17	4	1	0	1	3	100	50
276	18	4	1	1	0	0	100	50
345	19	4	1	0	1	1	100	50
439	20	4	1	0	1	3	100	50
154	21	4	1	1	0	0	100	50
464	22	4	1	1	0	0	100	50
723	23	4	1	1	0	0	100	50
340	24	4	1	0	1	2	100	50
430	25	4	1	0	1	2	100	50
462	26	4	1	0	1	2	100	50
493	27	4	1	0	1	2	100	50
201	28	4	1	1	0	0	100	50
537	29	4	1	1	0	0	100	50
206	30	4	1	1	0	0	100	50
732	31	4	1	0	1	2	100	50
508	32	4	1	0	1	2	100	50
380	33	4	1	0	1	1	100	50
281	34	4	1	1	0	0	100	50
220	35	4	1	0	1	2	100	50
503	36	4	1	0	1	2	100	50
185	37	4	1	1	0	0	100	50
740	38	4	1	1	0	0	100	50
739	39	4	1	0	1	2	100	50
699	40	4	1	0	1	1	100	50
742	41	4	1	1	0	0	100	50
743	42	4	1	1	0	0	100	50
455	43	4	1	0	1	1	100	50
568	44	4	1	0	1	1	100	50
747	45	4	1	1	0	0	100	50
701	46	4	1	0	1	1	100	50
750	47	4	1	1	0	0	100	50
669	48	4	1	0	1	1	100	50

```
;
* proc print;
* run;
*proc logistic;
model gest = gli glut gli*glut;
run;
*proc genmod;
model prol = gli glut gli*glut/dist=poisson;
run;
*proc means;
by prol;
by glut;
run;
*proc genmod;
class tr;
model prol = tr/dist=negbin;
run;
```

Proc means;

Proc GLM;

```
class tr;
```

```
model estro = tr;
```

```
lsmeans tr/stderr;
```

```
run;
```