



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

GANADERÍA

EFICIENCIA REPRODUCTIVA EN OVEJAS PRIMALAS SUPLEMENTADAS CON PULPA DE CAFÉ (*Coffea arabica*) DURANTE LA SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO

LIZBET KARINA GUTIÉRREZ PRADO

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

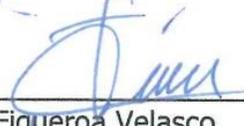
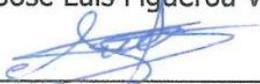
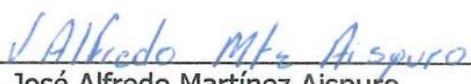
MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2017

La presente tesis titulada: **EFICIENCIA REPRODUCTIVA EN OVEJAS PRIMALAS SUPLEMENTADAS CON PULPA DE CAFÉ (*Coffea arabica*) DURANTE LA SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO**, Realizada por la alumna: LIZBET KARINA GUTIÉRREZ PRADO, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GANADERÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERA	 _____ Dra. Ma. Teresa Sánchez-Torres Esqueda
ASESOR	 _____ Dr. José Luis Figueroa Velasco
ASESOR	 _____ Dr. Teodulo Salinas Rios
ASESOR	 _____ Dr. José Alfredo Martínez Aispuro
ASESOR	 _____ Dr. David Alejandro Contreras Caro del Castillo

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Julio de 2017.

EFICIENCIA REPRODUCTIVA EN OVEJAS PRIMALAS SUPLEMENTADAS CON PULPA DE CAFÉ (*Coffea arabica*) DURANTE LA SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO

Lizbet Karina Gutiérrez Prado, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2017.

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el estado oxidativo y eficiencia reproductiva de ovejas primaras suplementadas con pulpa de café durante la sincronización del estro. Se utilizaron 60 ovejas que fueron distribuidas en tres tratamientos, bajo un diseño completamente al azar T0: (n=20) ovejas suplementadas con 1.5 kg de dieta integral, T1: (n=20) ovejas suplementadas con 1.5 kg de dieta integral al 5% (75 g) de pulpa de café, T2: (n=20) ovejas suplementadas con 1.5 kg de dieta integral al 10% (150 g) de pulpa de café. Se realizó un periodo de presincronización previo al inicio de la fase experimental, la sincronización se efectuó en un periodo de 11 días iniciando un día después de la presentación del estro presincronizado. Los estros se detectaron a partir de las 24 horas después del retiro del CIDR, realizando las montas a las 12 y 24 horas de la detección del celo. La suplementación se realizó por un periodo de 16 días, desde dos días antes del inicio de la sincronización y hasta un día posterior al término de la misma. Se obtuvieron muestras sanguíneas de la vena yugular en ovejas en ayuno (8:00 h) durante el periodo de suplementación y al inicio de la gestación, para determinación de estado oxidativo, concentración de progesterona, glucosa e insulina. La suplementación de pulpa de café en la dieta no modificó las variables reproductivas: inicio y duración de estro, concentraciones de progesterona, porcentaje de gestación, número de crías, peso al nacimiento y concentración de glucosa e insulina; sin embargo, se incrementó la capacidad antioxidante durante el periodo de sincronización ($P > 0.05$), por lo que se concluye que la pulpa de café no afecta los parámetros reproductivos y mejora el estado oxidativo en ovejas durante la sincronización.

Palabras Clave: Estrés oxidativo, ovejas primaras, sincronización de estro.

EFFICIENCY REPRODUCTIVE IN PRIMIPAROUS EWES SUPPLEMENTED WITH PULP OF COFFEE (*coffea arabica*) DURING THE SYNCHRONIZATION OF ESTRUS

Lizbet Karina Gutiérrez Prado, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2017

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the oxidative status and reproductive efficiency of primal sheep supplemented with coffee pulp during estrus synchronization. Twenty sheep were randomly distributed to three treatments, in a completely randomized design T0: (n = 20) sheep supplemented with 1.5 kg of integral diet, T1: (n = 20) sheep supplemented with 1.5 kg of integral diet with 5 % (75 g) of coffee pulp, T2: (n = 20) sheep supplemented with 1.5 kg of integral diet with 10% (150 g) of coffee pulp. A pre-synchronization period was carried out prior to the start of the experimental phase and synchronization was performed in a period of 11 days starting one day after the onset of pre-synchronized estrus. Estrus were detected 24 hours after the removal of the CIDR, giving natural services at 12 and 24 hours of heat detection. Supplementation was performed for a period of 16 days, from two days before the beginning of synchronization period and until one day after the end of synchronization. Blood samples were obtained during the period of supplementation and at the beginning of gestation, to determine oxidative status, concentrations of progesterone, glucose and insulin, by puncturing the jugular vein of the sheep in fasting state (8:00 h). Dietary supplementation of coffee pulp did not modify reproductive variables: estrus onset and duration, progesterone concentrations, gestation rate, number of offspring, birth weight, and glucose and insulin concentration; However, the antioxidant capacity was increased during the synchronization period ($P > 0.05$), so it was concluded that the oxidative state is modified during estrus synchronization when ewes are supplemented with a 10% inclusion of coffee pulp in the diet.

Key words: Primiparous ewes, estrus synchronization, oxidative stress.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por brindarme la facilidad económica para solventar el proceso de formación profesional.

Al Colegio de Postgraduados, especialmente a la orientación de Ganadería, por abrirme las puertas y por el financiamiento parcial otorgado para poder culminar los estudios de posgrado.

A la Dra. María Teresa Sánchez-Torres Esqueda, por concederme el honor y la oportunidad de formar parte de su grupo de trabajo, por las enseñanzas durante el proceso, por su amistad y el gran apoyo otorgado en la dirección de esta tesis.

Al Dr. José Luis Figueroa Velasco, por sus aportes efectuados en la escritura y culminación de esta tesis.

Al Dr. José Alfredo Martínez Aispuro, por sus sugerencias y aportes efectuados durante la investigación.

Al Dr. David Alejandro Contreras Caro del Castillo, por el tiempo dedicado y por las sugerencias realizadas durante el proceso y culminación del presente trabajo.

Al Dr. Teodulo Salinas Rios por su excelente y constante apoyo recibido durante el proceso de investigación.

Al MVZ José Luis Cordero Mora, por su valiosa participación en el proyecto de investigación y por todos los conocimientos y experiencias transmitidas.

Al M.C. Cuauhtémoc Nava Cuellar, por su amistad, disponibilidad y valioso apoyo en laboratorio fue esencial para la realización del trabajo de investigación.

Al Biólogo Mario Cárdenas León, por su invaluable disposición para la realización de los análisis en laboratorio.

A la Dra. María Magdalena Crosby Galván, por las facilidades prestadas durante la realización de pruebas de laboratorio.

Al Dr. José Luis García Cué por su gran y valioso apoyo otorgado durante etapas críticas de la fase analítica del proyecto y sobre todo por su gran calidad de persona agradezco infinitamente el tiempo otorgado para disolver las dudas surgidas en el proceso.

A todos mis amigos y compañeros que estuvieron apoyando en las arduas etapas del proyecto que con su apoyo aligeraron e hicieron más llevadero el proceso.

DEDICATORIAS

A mi padre: J. Jesús Sabino Gutiérrez Martínez †, por inculcar en mí el hábito de forjar los sueños a base de esfuerzo y perseverancia, donde sea que se encuentre, este logro está dedicado especialmente a su memoria.

A mi madre: Ma. Luisa Prado Martínez, por estar presente en cada etapa de mi vida a ella siempre agradeceré el amor y cobijo recibido.

A mis hijos: Iris Aileen e Isaac, porque el amor hacia un hijo es el más grande tesoro que una mujer puede poseer, ustedes son el motivo por el cual debo seguir adelante, porque la mejor educación se logra con el ejemplo.

A Eduardo Ramos Ramírez, por ser el mayor ejemplo de amor, esfuerzo, coraje y perseverancia porque nunca dejaremos de agradecer lo que fuiste capaz de resistir por amor a la vida y hacia tu familia gracias por quedarte aún entre nosotros.

A Prócoro Gómez Martínez, no existen palabras para agradecer tu incondicional apoyo porque gracias a ti he logrado alcanzar innumerables metas en mi vida, gracias por hacer mi camino más llevadero y por estar a mi lado aun en los momentos más difíciles.

CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN.	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.	5
2.1. Toxicidad del oxígeno.	5
2.2. Especies reactivas de oxígeno (ROS).	5
2.3. Radical libre.	5
2.4. Daño oxidativo.	6
2.5. Efecto nocivo de los radicales libres.	6
2.5.1. Lípidos.	7
2.5.2. Proteínas.	7
2.5.3. ADN.	8
2.6. Fitoquímicos.	8
2.7. Antioxidantes.	9
2.7.1. Sistemas de defensa antioxidante.	10
2.7.2. Clasificación.	11
2.8. Polifenoles.	11
2.8.1. Clasificación.	12
2.8.1.1. Ácidos hidroxicinámicos.	13
2.8.2. Acción antioxidante de los polifenoles.	13
2.9. Pulpa de café como fuente de antioxidantes polifenólicos.	15
2.10. Pulpa de café en la alimentación animal.	16
2.11. Sistemas de defensa antioxidante en animales.	18
2.12. Estrés oxidativo en rumiantes.	19
2.13. Época reproductiva en ovejas.	21
2.14. Hormonas en el ciclo reproductivo.	21
2.15. Sincronización de estro.	24
III. HIPÓTESIS.	25
IV. OBJETIVOS.	25
V. MATERIALES Y MÉTODOS.	25
5.1. Animales.	25
5.2. Tratamientos.	26

5.3. Dietas.	26
5.3.1. Capacidad antioxidante de las dietas	27
5.4. Sincronización de estros.	28
5.5. Ultrasonografía.	29
5.6. Muestras.	29
5.7. Variables evaluadas.	30
5.7.1. Inicio de estro.	30
5.7.2. Duración de estro.	30
5.7.3. Porcentaje de gestación.	30
5.7.4. Número de crías.	30
5.7.5. Peso al nacimiento.	30
Antioxidantes y hormonas	
5.7.6. Capacidad antioxidante.	30
5.7.7. Oxidación lipídica.	31
5.7.8. Progesterona.	31
5.7.9. Glucosa e Insulina.	32
5.8. Análisis estadístico.	32
VI. RESULTADOS.	34
6.1. Capacidad antioxidante de las dietas.	34
6.2. Variables reproductivas.	34
6.2.1. Inicio de estro.	34
6.2.2. Duración de estro.	35
6.2.3. Porcentaje de gestación.	35
6.2.4. Número de crías.	35
6.2.5. Peso al nacimiento.	35
6.3. Capacidad antioxidante en sangre.	36
6.4. Oxidación lipídica.	37
6.5. Concentración de progesterona.	39
6.6. Concentración de glucosa e insulina en suero sanguíneo.	40
VII. DISCUSIÓN.	41
7.1. Respuesta reproductiva.	41

7.2. Estado oxidativo.	42
7.3. Progesterona.	43
7.4. Glucosa e Insulina.	43
VIII. CONCLUSIÓN.	44
IX. LITERATURA CITADA.	45

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1.	Composición de las dietas utilizadas para la suplementación de las ovejas durante la sincronización del estro.	27
Cuadro 2.	Capacidad antioxidante de las dietas utilizadas en la suplementación de ovejas primaras durante la sincronización del estro.	34
Cuadro 3.	Variables reproductivas en ovejas sincronizadas y suplementadas con pulpa de café en la dieta.	36
Cuadro 4.	Capacidad antioxidante y Oxidación lipídica en ovejas alimentadas con diferente nivel de inclusión de pulpa de café durante la sincronización de estros.	38
Cuadro 5.	Concentración de glucosa e insulina en ovejas primaras suplementadas con pulpa de café durante la sincronización de estro.	40

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Clasificación de antioxidantes.	11
Figura 2.	Perfiles hormonales durante el ciclo estral en la oveja	22
Figura 3.	Programa de sincronización y toma de muestras para medir estado oxidativo, concentración de progesterona, glucosa e insulina, en ovejas suplementadas con pulpa de café en la dieta.	29
Figura 4.	Capacidad antioxidante en ovejas primaras durante la sincronización del estro con progestágeno.	37
Figura 5.	Oxidación lipídica en ovejas primaras durante la sincronización del estro con progestágeno.	38
Figura 6.	Concentración de progesterona en ovejas primaras durante la sincronización de estro con progestágeno e inicio de la gestación.	39

I. INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, la carne de ovino se ubica en el cuarto lugar del consumo de proteína animal, dentro del consumo total de cárnicos el 0.5% corresponde a carne ovina con una producción mundial de 14 millones de toneladas. De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, 2014), el hato mundial ovino es de cerca de 1,080 millones de cabezas, con una producción anual mundial de alrededor de 8.5 millones de toneladas de las cuales se destinan al comercio mundial 871 mil toneladas que corresponde a un 9% de la producción total. China abarca el 16% de producción total, ocupando el primer lugar en producción mundial de carne ovina con 28% de la misma, Australia con el 10% del total se ubica en el segundo lugar de producción mundial con 8% del total, Nueva Zelanda, no obstante es el cuarto productor mundial de carne ovina, con apenas el 6% del total, pero se ubica como primer exportador mundial con 40% del total (FAOSTAT, 2014). Francia es el mayor importador de carne de ovino, consume el 15% del total del valor de las exportaciones, le sigue Inglaterra, que a pesar del ser el tercer productor mundial con un 9%, importa 12% del total. Estados Unidos con 8% del total es el tercer importador mundial, mientras que México ocupa el cuarto lugar como importador de carne ovina, con 6% del total (FAOSTAT, 2014).

La explotación ovina en México se realiza a lo largo y ancho del país, y se pudiera dividir en dos sistemas de producción predominantes, el extensivo e intensivo, aunque en últimas fechas una combinación de ambos ha tenido buenos resultados (Arteaga, 2008). De acuerdo con los últimos datos publicados al respecto por SAGARPA, en 2011 se contaba con un hato ovino de 8.2 millones de cabezas, destacando en este sentido que en el estado de México se concentra el 18% del total, mientras que en Hidalgo el 13%, en Oaxaca el 8%, Veracruz 10% y SLP 6%, Puebla con 7% y Zacatecas con 6% (Arteaga, 2008). La población de ovinos en México, durante los últimos

diez años ha tenido un crecimiento sostenido llegando en 2014 a 8'405,902 de cabezas (SIAP, 2014); sin embargo la producción en México no satisface la demanda de carne de ovino, por lo que se requiere más competitividad en la cría ovina; siendo indispensable una transformación en los sistemas de producción para mejorar los factores que la afectan directamente (Martínez *et al.*, 2010).

La reproducción en ovinos y su eficiencia derivan de la estabilidad en los procesos de sincronización con fines de programación de partos e incremento de corderos en tiempo y cantidad respectivamente (Gundogan *et al.*, 2003; González *et al.*, 2005), con la aplicación de hormonas exógenas utilizadas en los protocolos de sincronización (Hashemi *et al.*, 2006; Fleisch *et al.*, 2006; Seekallu *et al.*, 2010), con lo que se ha obtenido homogeneidad en estros, favoreciendo la fecundidad y aumentando la tasa de pariciones (González *et al.*, 2005; Safdarian *et al.*, 2006).

Durante esta fase reproductiva (estros sincronizados) los ovinos al sufrir algún tipo de cambio metabólico, modifican su estado oxidativo y generan un estrés oxidativo (See-Ling *et al.*, 2013), que altera los procesos reproductivos en respuesta a los daños ocasionados a moléculas como: 1) Lípidos: al desencadenar las fases de iniciación, propagación, terminación, dando lugar a la formación de radicales lipídicos (L·) hidroperóxidos (LOO·), formación de aductos entre ADN y proteínas (Ayala *et al.*, 2014). 2) Proteínas: por la oxidación de los grupos SH, oxidación de residuos aromáticos, ataque a la unión peptídica (De Molina, 2003). 3) DNA: generando mutaciones, transformaciones carcinogénicas o muerte celular (Konigsberg, 2008), infertilidad y abortos (Al-Gubory *et al.*, 2010), por lo que es de suma importancia conocer el estado oxidativo previo, durante y posterior a la sincronización de estros y así poder determinar los tiempos y cantidades de suplementación de antioxidantes requeridos, para obtener mejores beneficios reproductivos (Sönmez *et al.*, 2009).

La suplementación con antioxidantes en ovinos, es diversa y pueden ser proporcionados de forma sintética o natural, algunos derivados de forma natural son considerados como subproductos de desecho que contienen grandes cantidades de compuestos fenólicos y de gran capacidad antioxidante, como la pulpa de café (Arellano *et al.*, 2011), la cual ha sido probada en vacas lecheras para ver los efectos metabólicos y de producción, encontrando que puede ser suplementada hasta en un 15% sin tener efectos negativos (Cipriano *et al.*, 2006), o incluir un 25% del concentrado en una relación 60:40 forraje:concentrado (Soares *et al.*, 2007).

El grano de café es uno de los principales productos de exportación de México. Es el producto perenne con más superficie cultivada después de los pastos cultivados, con un total de 718,126 hectáreas plantadas. México se encuentra entre los 10 principales productores de café y el primero en producción orgánica (SAGARPA, 2012). En el 2012 la producción de café cereza fue de 1'287,642.69 toneladas. La inclusión de la pulpa de café en la alimentación animal ha sido evaluada en ganancias de peso, consumo de alimento y conversión alimenticia en diferentes especies animales (Barrueta *et al.*, 2000; Ferreira *et al.*, 2001; Bautista *et al.*, 2005). A este subproducto se le han encontrado compuestos como los taninos y la cafeína (Ferreira *et al.*, 2001; Noriega *et al.*, 2009) los cuales son limitantes en las dietas. También se han encontrado algunos compuestos fenólicos en la pulpa de café (Ramirez-Coronel *et al.*, 2004) los cuales han mostrado ser potentes antioxidantes (Sroka y Cisowski, 2003).

La inclusión de los subproductos del café es viable a determinados porcentajes de concentración, sin embargo es necesario determinar su influencia en las fases reproductivas al contener antioxidantes naturales que contrarrestan a la lipoperoxidación, sin que esta afecte, por su alto contenido de cafeína, como lo reportan Salinas *et al.* (2016), ya que al realizar una inclusión de 25%, las características reproductivas fueron afectadas. En el presente estudio se propuso

determinar la influencia de inclusión al 5 y 10% de pulpa de café, en la suplementación de la dieta, sobre el estado oxidativo de ovejas primíparas durante la sincronización de estros y durante la gestación, buscando mejorar el estado oxidativo y las características reproductivas.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Toxicidad del oxígeno

El oxígeno es uno de los tres elementos más abundantes en el universo (Lineweaver *et al.*, 2004), en su forma libre es altamente reactivo en la formación de óxidos. Las células por su naturaleza aerobia son dependientes de este compuesto ya que su funcionamiento se basa en el oxígeno proveniente de la sangre y pulmones; los organismos lo utilizan para eliminar los desechos tóxicos derivados de la producción de ATP en la mitocondria (Patel *et al.*, 1999). Aproximadamente el 95% del oxígeno que se respira es transformado en agua a través del complejo citocromo-oxidasa (citocromo A+a3) a nivel celular durante la respiración mitocondrial y un menor porcentaje (<5%) se reduce a radicales libres (Halliwell, 1989).

2.2. Especies reactivas de oxígeno (ROS)

El término ROS (Especies Reactivas de Oxígeno) es referido simultáneamente como radical libre; sin embargo, ROS refiere a moléculas químicamente reactivas derivadas del oxígeno; radicales o agentes oxidantes que pueden ser convertidos fácilmente a radicales (MacFarlane *et al.*, 2008). Las principales especies reactivas de oxígeno o sustancias prooxidantes son: Radical hidroxilo (OH), Peróxido de hidrógeno (H₂O₂), Anión superóxido (O₂⁻), Oxígeno singlete (¹O₂), Oxígeno nítrico (NO), Peróxido (ROO), Semiquinona (Q) y Ozono (González-Mangado, 2001; Andreyev *et al.*, 2005).

2.3. Radical libre

Los átomos y moléculas poseen orbitales que son ocupados por electrones; cuando el último orbital posee solo un electrón se le denomina electrón desapareado (Chang, 2002; MacFarlane *et al.*, 2008). Los radicales libres son moléculas altamente reactivas que en su estructura poseen un

electrón desapareado en el último orbital, condición que le confiere una alta inestabilidad. Por su vida media corta los radicales libres actúan en el lugar donde se forman (Cheesman y Slater, 1993; Cheesman, 1998), intentando buscar otro electrón para nivelar su desequilibrio atómico, por lo que le quitan un electrón a cualquier molécula vecina oxidándola, alterando su estructura y convirtiéndola en un nuevo radical libre que de igual manera buscará otro electrón para equilibrarse. De esta forma se iniciará una reacción en cadena afectando las células. Esta reacción podrá ser indefinida a menos que exista la intervención de los antioxidantes (Kachadourian *et al.*, 2004).

Los radicales libres en niveles normales cumplen la función de mantener activo al sistema inmunológico entre otras acciones, participando en múltiples procesos como fagocitosis, síntesis de colágeno, síntesis de prostaglandinas, activación de enzimas de la membrana celular, reduciendo la síntesis de catecolaminas, producción de eicosanoides y factor endotelial de relajación (Beckman y Koppenal, 1996).

2.4. Daño oxidativo

Es causado por una alteración en la homeostasis de óxido-reducción dentro de la célula (Hausladen y Stambler, 1999), este desbalance se presenta cuando el proceso de pérdida y donación de electrones es superada por una elevada producción de radicales libres o por un déficit de las defensas antioxidantes, generando estrés oxidativo (Ames *et al.*, 1993; Agarwal y Saleh, 2002; Agarwal *et al.*, 2006). Esto desencadena efectos en múltiples procesos celulares como daños a lípidos, proteínas, y ácidos nucleicos (Halliwell y Whiteman 2004; Radak *et al.*, 2011).

2.5. Efecto nocivo de los radicales libres

Gerschman *et al.* (1954) definieron la toxicidad y la generación de enfermedades causadas por los radicales libres. El daño producido por estos agentes ocurre sobre diferentes

macromoléculas debido su alto potencial estándar de reducción, lo que los hace reaccionar oxidando fácilmente el medio en que se encuentren, dañando los tejidos.

2.5.1. Lípidos

Los radicales libres afectan mayoritariamente a los lípidos bajo el proceso conocido como peroxidación lipídica o enranciamiento oxidativo, alterando las estructuras ricas en ácidos grasos poliinsaturados principalmente, convirtiéndose así en radicales de ácidos grasos que tendrán una alta capacidad para oxidar nuevas moléculas, generando una reacción en cadena que llevará a la muerte celular por edema debido a la alteración de la permeabilidad de la membrana (Jerlick *et al.*, 2000).

Al llevarse a cabo la reacción de óxido-reducción (redox) entre los radicales libres y los ácidos grasos poliinsaturados, surge como resultado final el metabolito llamado malondealdehído (MDA), el cual expresa el daño ocasionado por radicales libres, que es determinado en laboratorio mediante tejidos, plasma u orina (Nielsen, 1997).

2.5.2. Proteínas

Dakin (1906) inició los estudios en el conocimiento de los procesos de la oxidación de las proteínas a partir de los radicales libres.

Las proteínas pueden ser afectadas por cualquier factor que ocasione estrés oxidativo bajo procesos químicos muy complejos (Shanlin *et al.*, 1997), afectando directamente a los aminoácidos, principalmente a metionina, triptófano, fenilalanina, tirosina, cisteína, leucina, valina, lisina, arginina, prolina e histidina (Vogt, 1995; Silvester *et al.*, 1998), estos efectos pueden cuantificarse mediante reacciones Fenton que consiste en la reacción del peróxido de hidrogeno (H_2O_2) con metales de transición principalmente el hierro (Fe^{2+}/Fe^{3+}), generando radicales altamente reactivos del hidroxilo ($OH\cdot$), que reaccionan directamente con las cadenas laterales de

los aminoácidos adyacentes al sitio de unión al metal de la proteína alterando directamente su estructura y función (Ortega *et al.*, 1999), iniciando una reacción en cadena, pues las proteínas dañadas de igual forma reaccionarán con otras biomoléculas cercanas.

2.5.3. ADN

Otro de los principales objetivos de los radicales libres es el daño producido a las moléculas de ADN, ya que los daños ocasionados alteran la homeostasis celular, es por ello que los estudios acerca de los agentes y mecanismos de acción del daño se han intensificado, con el fin de esclarecer la patogenia de muchas enfermedades (Jaruga y Dizdaroglu, 1996; Okamoto *et al.*, 1996).

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) generadas por agentes externos o derivados de los procesos metabólicos celulares, dañan las moléculas de ADN mediante ataques electrófilos hacia los grupos nucleófilos de la desoxirribosa y de las bases nitrogenadas (Shi, 1996). Se han reportado diferentes tipos de daño a las moléculas de ADN entre los que se encuentran: ruptura del esqueleto azúcar fosfato de una o de las dos cadenas, modificación de las bases nitrogenadas (saturación y fragmentación del anillo de tiamina) y la formación de uniones cruzadas (cross-links) ADN-ADN o ADN-proteína (González-Mangado, 2001).

2.6. Fitoquímicos

En la actualidad se han estudiado diversas plantas que contienen compuestos con la capacidad de contrarrestar los daños causados por las ROS (Youdim y Joseph, 2001; Suwalsky y Avello, 2006) en órganos y tejidos del cuerpo humano (Cao *et al.*, 1998), favoreciendo la resistencia y prevención de enfermedades degenerativas y problemas cardiovasculares (Gate *et al.*, 1999; Youdim y Joseph, 2001). Estos compuestos llamados fitoquímicos forman parte del sistema de defensa de las plantas contra el estrés biótico y abiótico, son responsables de la tolerancia ante el ataque de patógenos o herbívoros, funcionan como medios de protección ante las condiciones

ambientales como radiación por luz ultravioleta o sequía (Osbourn y Lanzotti, 2009). En 2004 se realizó la descripción de los mecanismos de acción de estos compuestos:

1. Estabilizan las membranas mitocondriales y activadores de la función mitocondrial, evitan el daño o muerte celular por apoptosis o necrosis.
2. Por su actividad quelante evitan la oxidación de la célula causada por metales libres promotores de reacciones oxidativas (Fenton).
3. Antioxidantes que disminuyen el daño oxidativo, estimulan la actividad antioxidante, protegen el ADN de la oxidación, inhiben la muerte celular por apoptosis en órganos vitales.
4. Inductores de apoptosis en células preneoplásicas o neoplásicas (Ferrari, 2004).

Estos metabolitos pueden clasificarse por categorías en base a su origen biosintético en: compuestos fenoles, alcaloides, esteroides, terpenos, saponinas, entre otros, donde la mayor distribución la ocupan los compuestos fenólicos (Shi *et al.*, 2003; Chew *et al.*, 2011). Los polifenoles, los ginkgolidos y los compuestos organosulfurados son los principales fitoquímicos con actividad antioxidante comprobada (Papaganga *et al.*, 1999; McKenna *et al.*, 2001).

2.7. Antioxidantes

Los antioxidantes se definen como un grupo de compuestos capaces de retrasar o inhibir significativamente la oxidación de las moléculas en concentraciones bajas con respecto al sustrato oxidante (Haliwell, 1995), actuando de acuerdo a los siguientes mecanismos de acción (Han *et al.*, 2007):

1. Disminuyendo el daño oxidativo a las moléculas, al secuestrar los radicales libres iniciales evitando la reacción en cadena.
2. Impiden la unión de los RL a las proteínas.
3. Previenen la mutación del ADN y daño a tejidos.

4. Descomponen los productos primarios de oxidación.

2.7.1. Sistemas de defensa antioxidante

Las reacciones metabólicas de oxidación son esenciales en los procesos metabólicos de las células, las cuales involucran una generación de radicales libres como resultado del transporte de electrones; los organismos aerobios cuentan con un sistema de defensa antioxidante capacitado para hacer frente a estos ataques ocasionados por los radicales libres hacia las células; este sistema de defensa los neutraliza, impidiendo que otras moléculas se unan al oxígeno; es decir, sacrifican su propia integridad molecular para evitar el daño a otras moléculas como: proteínas, lípidos, carbohidratos y ADN (Reitter, 1995), manteniendo el equilibrio prooxidante-antioxidante actuando tanto en medios hidrofílicos como en medios hidrofóbicos (Jakoby y Ziegler, 1990).

El sistema de defensa antioxidante está formado por enzimas de degradación de ROS: 1) Superóxido dismutasa (SOD): Formado por Cu-SOD y Zn-SOD actúan catalizando la reducción de anión superóxido para formación de peróxido de hidrogeno (H_2O_2) (Sanz y Barja, 2006; Srinivasan y Avadhani, 2012), 2) Glutación peroxidasa (GPx): Es una enzima dependiente del selenio que cataliza el lipoperóxido (L-OOH) a partir de peróxido de hidrógeno (H_2O_2), su principal agente reductor es el glutación reducido (GSH) (Liang *et al.*, 2009), 3) Catalasa (CAT): Ejerce dos funciones principales la catalítica y la peroxidativa, actúa sobre H_2O_2 (Schmidt *et al.*, 2005; Jeong *et al.*, 2012) y 4) Sistema tiorredoxina formado por el NADPH y la tiorredoxina reductasa (TrxR) que de igual forma actúan en la reducción de la oxidación y muerte de las células por apoptosis (Kumar, 2004).

2.7.2. Clasificación

Ratnam *et al.* (2006) menciona que los antioxidantes pueden clasificarse en enzimáticos y no enzimáticos (Figura 1); algunos de estos antioxidantes son producidos por el organismo bajo un sistema enzimático que incluye moléculas de bajo peso molecular y cofactores enzimáticos, que convierten a los oxidantes en moléculas inofensivas (Gaté *et al.*, 1999; Ratnam *et al.*, 2006).

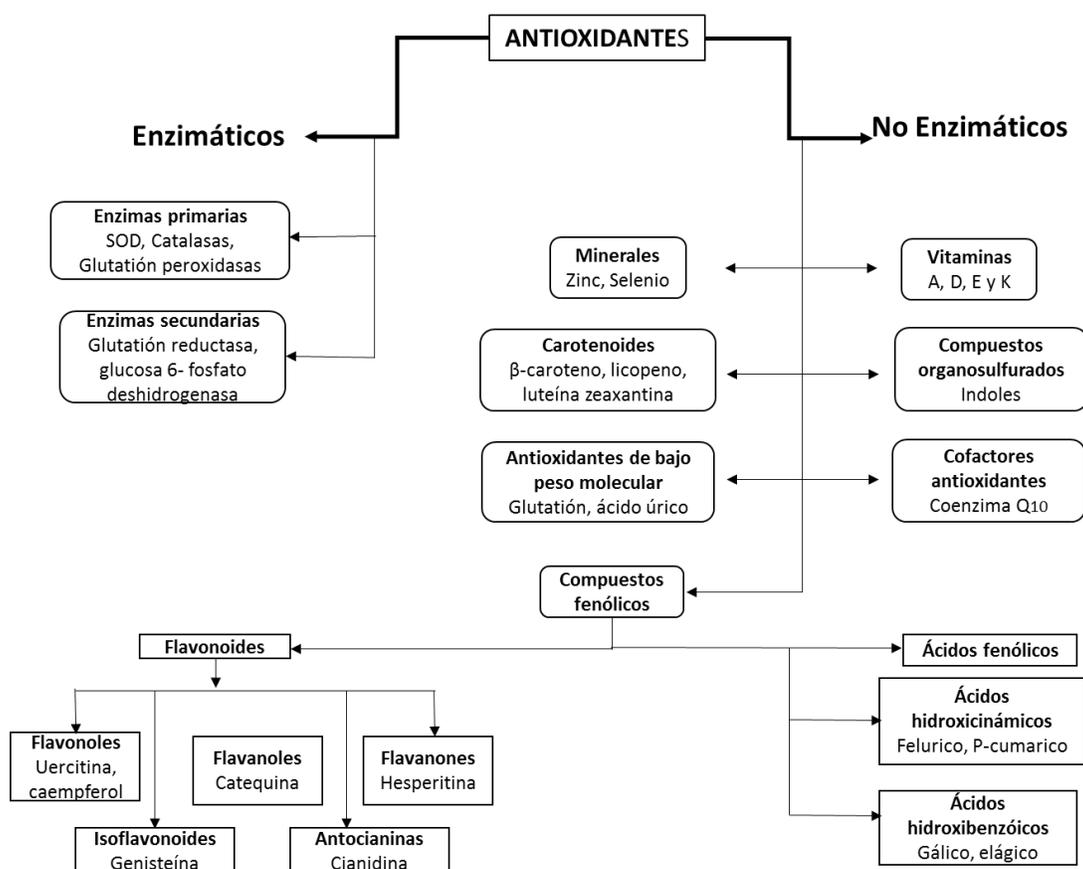


Figura 1. Clasificación de antioxidantes (Ratnam *et al.*, 2006).

2.8. Polifenoles

Los compuestos fenólicos se conforman por un amplio grupo de sustancias, incluyendo más de 8,000 compuestos de origen natural, los cuales poseen una característica estructural en común: un grupo fenol con al menos un grupo hidroxilo como sustituyente (Robbins, 2003).

La biosíntesis de los polifenoles en las plantas superiores es controlada mediante procesos endógenos, durante la diferenciación del desarrollo o por factores ambientales como luz temperatura o heridas físicas o mecánicas (Häkkinen, 2000). Son compuestos antioxidantes, producto del metabolismo secundario de plantas, los cuales se pueden encontrar en una gran variedad de frutas y vegetales (Soong y Barlow, 2006; Li *et al.*, 2008). Dentro de las acciones que ejercen en la fisiología de las plantas, está la resistencia a microorganismos e insectos y brindan protección a la exposición ante ambientes estresantes como radiaciones ultravioleta y altas temperaturas (Brovillard *et al.*, 1997). Se conoce que una fracción de los polifenoles influye directamente en las defensas antioxidantes del organismo, estos son capturados por las células de la mucosa del sistema alimentario proximal, y junto con sus metabolitos son detectados en el plasma a concentraciones micro molares (Manach *et al.*, 1998; Serafini *et al.*, 1998).

2.8.1. Clasificación

Los polifenoles a su vez se dividen en dos categorías, la primera en extraíbles (libres y conjugados) y la segunda en no extraíbles, formas insolubles principalmente ligadas a polisacáridos de las paredes celulares (De Mira *et al.*, 2009). De acuerdo a su estructura y eficiencia como antioxidantes han sido clasificados en diferentes grupos y dependen de varios factores, debido al número de anillos fenol, tipo y número de elementos estructurales ligados, sus componentes moleculares varían de muy simples a compuestos altamente polimerizados. En esta clasificación estructural destacan los ácidos fenólicos simples, estilbenos, curcuminoides, chalconas, lignanos, flavonoides e isoflavonas (Paliyath *et al.*, 2008; González-Castrejón y Rodríguez-Casado, 2011), siendo los ácidos fenólicos y los flavonoides los más ampliamente distribuidos y diversificados procedentes de plantas o partes de ellas, como en frutos, tallos, raíces y granos (Pietta, 2000; Han *et al.*, 2007).

2.8.1.1. Ácidos hidroxicinámicos

Los ácidos fenólicos se derivan de los ácidos benzoico y cinámico, de los cuales existen dos tipos: ácidos hidroxicinámicos y ácidos hidroxibenzóicos. El primer grupo incluye el ácido cumárico, cafeico y ferúlico; en el segundo grupo se encuentran el ácido gálico, *p*-hidroxibenzoico, vanílico, entre otros (Dykes y Rooney, 2007). En general, los ácidos fenólicos pueden estar en forma esterificada, glicosilada y polimerizada (Häkkinen, 2000); de forma estructural los polifenoles derivan los ácidos fenólicos simples y de ellos el ácido cafeico, ácido ferúlico y ácido clorogénico; así mismo los ácidos fenólicos se encuentran principalmente en la capa externa de los frutos y granos, formando parte de una estructura compleja como la lignina o como un derivado de azúcar (Mora-Rochín, 2011).

Los derivados de los ácidos cinámico y benzoico se desarrollan prácticamente en todo tipo de alimentos vegetales, que se encuentran dispersos en semillas, hojas, raíces y tallo; además, a dichos compuestos se les ha relacionado con diversas funciones en plantas, como en aspectos fisiológicos, absorción de nutrientes, síntesis de proteínas, actividad enzimática, fotosíntesis y alelopatía (Robbins, 2003).

2.8.2. Acción antioxidante de los polifenoles

Los compuestos fenólicos cumplen la función de ser captadores y estabilizadores de los radicales libres, donde se produce la quelación de metales, aquellos que poseen en su estructura grupos carboxílicos, su acción antioxidante es atribuible a la inhibición que se ejerce sobre las enzimas prooxidantes como la lipooxigenasa (Decker, 1995; Decker, 1997). La función de los antioxidantes fenólicos es de interferir en el proceso de oxidación de lípidos y otras moléculas por donación rápida de un átomo de hidrógeno a los radicales libres, propiciando de esta manera

radicales fenoxi intermediarios relativamente estables por la deslocalización por resonancia y carencia de sitios adecuados para el ataque del oxígeno molecular (Shahidi y Naczk, 2004).

La eficiencia de los fenólicos como compuestos antioxidantes depende en gran medida de su estructura química. Los flavonoides se encuentran entre los más potentes antioxidantes provenientes de las plantas, debido a que poseen elementos estructurales involucrados en la actividad anti radical, además, la eficiencia antioxidante de estos compuestos está directamente relacionada con su grado de hidroxilación y disminuye al encontrarse en forma de glicósidos (Bravo *et al.*, 1994). Además los flavonoides como la quercetina, uno de los antioxidantes naturales más potentes y la curcumina incrementan la actividad de algunas enzimas antioxidantes como la glutatión peroxidasa, superóxido dismutasa, catalasa y glutatión reductasa (Han *et al.*, 2007).

Entre los compuestos fenólicos con actividad antioxidante más reconocida destacan también algunos ácidos fenólicos, como los ácidos hidroxicinámico, hidroxibenzóico, caféico y clorogénico, además de los taninos, chalconas y cumarinas (Martins *et al.*, 2011). La actividad antioxidante de los ácidos fenólicos y sus esterés depende del número de grupos hidroxilo en la molécula (Shahidi y Naczk, 1995). Así, los ácidos hidroxicinámicos como el caféico y derivados del ácido *p*-cumárico han mostrado poseer una eficiencia antioxidante significativamente mayor que los ácidos hidroxibezóicos (Kim *et al.*, 2006), por ejemplo, el ácido dihidrocaféico, tiene la capacidad de secuestrar radicales libres, como el anión superóxido y los radicales hidroxilo y peroxilo (Han *et al.*, 2007). Así mismo, el ácido ferúlico ha mostrado la capacidad de disminuir la peroxidación lipídica y el aumento de los niveles de glutatión y enzimas antioxidantes (Balasubramani, 2004).

2.9. Pulpa de café como fuente de antioxidantes polifenólicos

De acuerdo a los estudios realizados al café como fuente de antioxidantes, este ha demostrado tener una actividad antioxidante considerable, principalmente después de haber sido procesado (Pérez-Hernández *et al.*, 2013); sin embargo existen residuos que son generados después del despulpado de la cereza del café (la pulpa y el pergamino) que no son aprovechados y por lo tanto son considerados como los desechos mayoritarios de la agroindustria con una generación aproximada de 100,000 toneladas por año (Salmones *et al.*, 2005). Aunque se han encontrado diversas aplicaciones para dichos desechos, estos son utilizados en bajo porcentaje y no son técnicamente muy eficientes (Pandey *et al.*, 2000), se utilizan principalmente como abono orgánico, como mejorador físico de los suelos, como fuente de residuos celulósicos, de fibra dietética, para producción de bioetanol y carbón activado (Soares *et al.*, 2000; Garzón y Cuervo, 2008; Funes *et al.*, 2012; Solís-Fuentes *et al.*, 2012).

Algunos autores han indicado que dicho subproducto es apto para ser utilizado en la alimentación animal (Souza *et al.*, 2005; Souza *et al.*, 2006; Barcelos *et al.*, 2007), al contener metabolitos secundarios que favorecen la fermentación ruminal y la síntesis de proteína microbiana (Makkar, 2003). Además de presentar un contenido de cafeína y ácidos fenólicos que les confieren propiedades antioxidantes (Ramírez-Martínez, 1988; Yanagimoto *et al.*, 2004; Fujioka y Shibamoto, 2006; Gülcin, 2006; Kim *et al.*, 2008; Votavova *et al.*, 2009; Arellano *et al.*, 2011), como el ácido clorogénico, ácido caféico y ácido ferúlico (Asther *et al.*, 2005), destacándose el ácido clorogénico y el ácido caféico como los más abundantes (Olthof *et al.*, 2001) que pueden ser aprovechadas en los sistemas de producción para contrarestar los daños generados por los radicales libres, al actuar directamente en la formación de las especies reactivas de oxígeno o en la

eliminación de las ROS originadas (Albano, 2006; Butterfield *et al.*, 2006; Davidson y Duchon, 2007; Hwang y Bowen, 2007).

2.10. Pulpa de café en la alimentación animal

Los esquemas eficientes de alimentación animal, derivan actualmente un gran reto, por lo que se buscan posibles alternativas que vinculen la utilización de productos o subproductos derivados de procesos productivos primarios o secundarios y esto propicie un beneficio mutuo.

La utilización de los subproductos del procesado de café en la inclusión a la alimentación animal, ofrece un valor extra a los ingresos de los productores, ya que en el despulpado de café se generan varios subproductos (pulpa de café, cáscara de la cereza, cáscara del café pergamino y cáscara del grano) que contienen grandes cantidades de compuestos antioxidantes (Arellano *et al.*, 2011; Murthy y Naidu, 2012), cantidades considerables de minerales: 3.1% de potasio, 0.46% de calcio, 0.14% de magnesio, 0.013% de fósforo (Figueroa y Mendoza, 2010). De acuerdo con la disponibilidad y composición química de la pulpa de café se han propuesto varias formas de utilizarla, ya que además de los compuestos antioxidantes la pulpa de café contiene 0.87% de cafeína (Ferreira *et al.*, 2001), la cual ocasiona algunos efectos adversos por ser diurética (Stokey, 1999) e incrementa la excreción de nitrógeno a porcentajes elevados en su inclusión.

Diferentes métodos se han utilizado para reducir la cafeína, fenoles y taninos por considerarlos indeseables, entre ellos está el ensilado con melaza, descomposición aeróbica e inoculación bacteriana (Ulloa *et al.*, 2003) el ensilaje ha sido uno de los métodos más utilizados, seguido del secado y del procesamiento mediante agentes microbiológicos para incrementar el contenido de energía (Ferrer *et al.*, 1995; Ramírez, 1998), dichos procesos favorecen el uso y manejo de la pulpa de café sin alterar sus propiedades nutritivas, existiendo planteamientos de uso tanto en fresco como ensalada (Ferreira *et al.*, 2000; Ferreira *et al.*, 2003).

En ovinos la pulpa de café pasada por un proceso de ensilaje puede ser administrada sustituyendo la paja de arroz favoreciendo el consumo de materia seca sin presentar efectos negativos en la digestibilidad (Blandón, 2009), la pulpa de café en concentraciones del 10% no afecta el consumo y la digestibilidad total de nutrientes (Lima de Souza *et al.*, 2005). El-Sayed *et al.* (1999) y Souza *et al.* (2004) indican que la pulpa de café puede sustituirse hasta en un 15% en ovinos sin afectar la productividad de los animales. Jarquin (1987) menciona que hay efectos negativos al incrementar los porcentajes de pulpa de café, como los obtenidos por Vargas *et al.* (1977) quienes observaron que al incrementar el nivel de inclusión de pulpa de café en la dieta de ovinos hubo un menor consumo de materia seca, proteína, energía digerible y una disminución en la ganancia de peso. De igual forma Salinas *et al.* (2016) quien al incluir en un 25% la pulpa de café en el concentrado desde 14 días antes de la sincronización hasta inicios de la gestación, recomienda no usar dicho nivel de inclusión, ya que los porcentajes de gestación pueden verse afectados.

En dietas para novillos con 60:40 de forraje-concentrado con inclusión de 30% de cáscara de café en el concentrado no se afecta la ganancia de peso, y se mejora considerablemente la relación beneficio-costo (Ferreira *et al.*, 1997). En vacas lecheras la producción de leche, el contenido de grasa, proteína y sólidos totales no se ven afectados por la inclusión de 10.5% de cascara de café (Lima de Souza *et al.*, 2005).

En cerdos en crecimiento la inclusión de hasta 20% de pulpa de café ensilada no afecta la ganancia de peso y la eficiencia alimenticia, pero sí el consumo de alimento, siendo el 15% la inclusión máxima en la cual no se afecta esta variable, mientras que en la fase de engorda se puede incluir hasta el 20% sin afectar la ganancia de peso, consumo de alimento y eficiencia alimenticia (Barrueta *et al.*, 2000).

En aves se ha reportado que la inclusión de pulpa de café por arriba del 5% ocasiona efectos adversos en los valores de digestibilidad verdadera de la materia seca, nitrógeno y energía metabolizable verdadera (Acosta *et al.*, 1997); mientras que en alevines se ha comprobado que la inclusión de 18% de pulpa de café ensilada o sin ensilar no afecta los parámetros productivos y reduce los costos de producción (Bautista *et al.*, 2005). Una de las limitantes en su inclusión es que incrementa el nitrógeno en heces y orina, por lo que el porcentaje de nitrógeno retenido es menor. Sin embargo, tiene efectos benéficos ya que se ha encontrado que la cafeína disminuye la grasa e incrementa la cantidad de proteína en la carne (Poornahavandi y Zamiri, 2008).

2.11. Sistemas de defensa antioxidante en animales

Los antioxidantes enzimáticos se encuentran dentro del organismo animal y su función es proteger y prevenir a las células de ROS producidos durante el metabolismo. Los tres principales antioxidantes enzimáticos son la superóxido dismutasa que cataliza el anión superóxido a peróxido de hidrógeno; la catalasa que es una enzima tetramérica que convierte el peróxido de hidrógeno en agua, se localiza en los peroxisomas; y la glutatión peroxidasa que ayuda a la eliminación del peróxido de hidrógeno, que a diferencia de la catalasa que usa el peróxido de hidrógeno como dador de electrones utiliza el glutatión reducido; se encuentra en el citosol y en las mitocondrias (Montero, 1996).

La actividad de superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPX), glutatión reductasa (GSR) y glutatión transferasa en el cuerpo lúteo de borregas obtenidos en el día 15, 40, 60, 80 y 128 de preñez, encontraron que SOD1, GPX y GSR se incrementaron del día 15 a 40 y después de esto permanecieron sin cambios (Al-Gubory *et al.*, 2004; Al-Gubory *et al.*, 2008). Estos cambios posiblemente ayuden a contrarrestar el efecto de ROS durante la gestación, ya que se ha visto que ROS son producidos durante la reacción enzimática principalmente por la familia

citocromo P-450 y por el sistema respiratorio de la mitocondria, y son considerados como subproductos de síntesis de esteroides en el cuerpo lúteo. En células lúteas de ratas el H₂O₂ es un potente oxidante que ha demostrado inhibir la esteroidogénesis por bloqueo de LH y transporte de colesterol dentro de la mitocondria. La GSR y SOD varían acorde al tamaño del folículo y estado del ciclo estral, por lo que se sugiere un posible papel de estos antioxidantes enzimáticos en el desarrollo folicular durante el ciclo estral (El-Shahat y Kandil, 2012).

Se ha encontrado correlación de hasta el 97% para la actividad enzimática de la GPX y la concentración de selenio en plasma (Ceballos *et al.*, 1999). La actividad GPX, SOD y catalasa disminuye en tejidos glandulares del endometrio de borregas ovariectomizadas tratadas con estrógenos (Al-Gubory *et al.*, 2008). La concentración de glutatión, glutatión peroxidasa y catalasa varían con la gestación, lo cual se puede deber a los diferentes cambios que se presentan durante la preñez y a los diferentes mecanismos enzimáticos de defensa por parte del organismo de las ovejas (Erisir *et al.*, 2009).

Sin embargo cuando la elevada formación de ROS supera el sistema de defensa antioxidante, derivado de las condiciones estresantes a las que son sometidos los animales (estrés por calor, elevadas producciones, manejo en los procesos reproductivos), se manifiestan problemas reproductivos afectando a las células del aparato reproductor, provocando fallos reproductivos, haciéndose necesario el uso de antioxidantes exógenos en la dieta en etapas críticas (Quintela *et al.*, 2008).

2.12. Estrés oxidativo en rumiantes

Los radicales libres (RL), entre ellos las formas reactivas del oxígeno (ROS) se generan constantemente en el organismo, en muchos casos para cumplir funciones fisiológicas; no obstante,

cuando se producen en exceso pueden provocar estrés oxidativo, especialmente ante la presencia de iones como hierro (Fe^{+3}) o cobre (Cu^{+2}). El exceso de ROS puede producir daño a lípidos de las membranas celulares o lipoperoxidación de proteínas, carbohidratos y ADN (Bendich, 1993; Gür *et al.*, 2010).

Así como los RL se forman durante el proceso oxidativo normal, en el organismo se sintetizan enzimas capaces de metabolizarlos, las cuales interrumpen la reacción de peroxidación de la cadena lipídica por poseer hidrogeniones fácilmente donables, lo cual provoca abstracción de los radicales peróxidos (Garrel *et al.*, 2007).

Uno de los factores que afecta el estado oxidativo en la reproducción es la condición corporal. Estudios realizados en rumiantes indican que individuos con alta condición corporal al parto son más sensibles al estrés oxidativo (Bernabucci *et al.*, 2005). Otros estudios han demostrado que la cantidad de malondialdehído (sustancia que reacciona con el ácido tiobarbitúrico) en placentomas de ovejas es mayor en el día 80 con respecto a los días 35 y 50 de gestación (Garrel *et al.*, 2010). En cabras se ha demostrado que existe un incremento de estrés oxidativo al utilizar progestágenos para la sincronización de celos, también se ha reportado que la inyección de 200 mg de vitamina E al momento del retiro del progestágeno y a la segunda inseminación logran disminuir el estrés oxidativo e incrementar el número de partos múltiples y la prolificidad (Sönmez *et al.*, 2009). Los productos de oxidación, los cuales son marcadores de la oxidación de proteínas, son mayores en plasma sanguíneo de borregas que presentan mortalidad embrionaria (Celi *et al.*, 2012).

El estrés oxidativo está relacionado con desórdenes como retención placentaria (Kankofer, 2002), esto ocasiona que durante este desorden exista alta demanda de antioxidantes y la capacidad antioxidante disminuya (Kankofer *et al.*, 2010), por lo que una dieta sin los antioxidantes necesarios puede incrementar el estrés oxidativo y la retención de membranas fetales (Brzezinska-Swobodzinsk *et al.*, 1994). A pesar de los problemas fisiológicos que ocasiona la producción de

ROS, también se ha demostrado que estos son esenciales para que se lleve a cabo la ovulación; por ejemplo, Shkolnik *et al.* (2011) demostraron que en ratones, los antioxidantes como el hidroxibutilanisol inhibe la expansión del *cumulus*, el cual es indispensable para que se libere el ovocito, por lo que también encontraron que el número de ovocitos ovulados fue menor.

Durante el periodo de gestación y lactancia, al medir los cambios enzimáticos en placentomas de ovejas durante los primeros 80 días de gestación, se ha encontrado que la glutatión peroxidasa aumenta al incrementarse el tiempo de gestación (Garrel *et al.*, 2010).

2.13. Época reproductiva en ovejas

La época reproductiva en las ovejas está mediada por el fotoperiodo, la disminución de horas luz durante la época de otoño es traducida por las ovejas en una señal hormonal a través de la retina mediante la síntesis de melatonina (Williams y Helliwell, 1993; McMillen *et al.*, 1995; Arendt, 1998; Malpoux *et al.*, 2002), presentándose actividad estral durante los días cortos de otoño e invierno para dar lugar a los partos en la época más favorable del año (Hafez, 1989; Cerna *et al.*, 2000).

2.14. Hormonas en el ciclo reproductivo

En ovinos la duración del ciclo estral es aproximadamente de 16.5 a 17 días en corderas y de 16.8 a 17.2 en ovejas adultas, consta de diferentes fases: desarrollo folicular conducente a la ovulación, con una duración de dos a tres días y el desarrollo y lisis del cuerpo lúteo con una duración de 13 a 14 días (Driancourt *et al.*, 1985; González-Reyna, 1991; Uribe *et al.*, 2009).

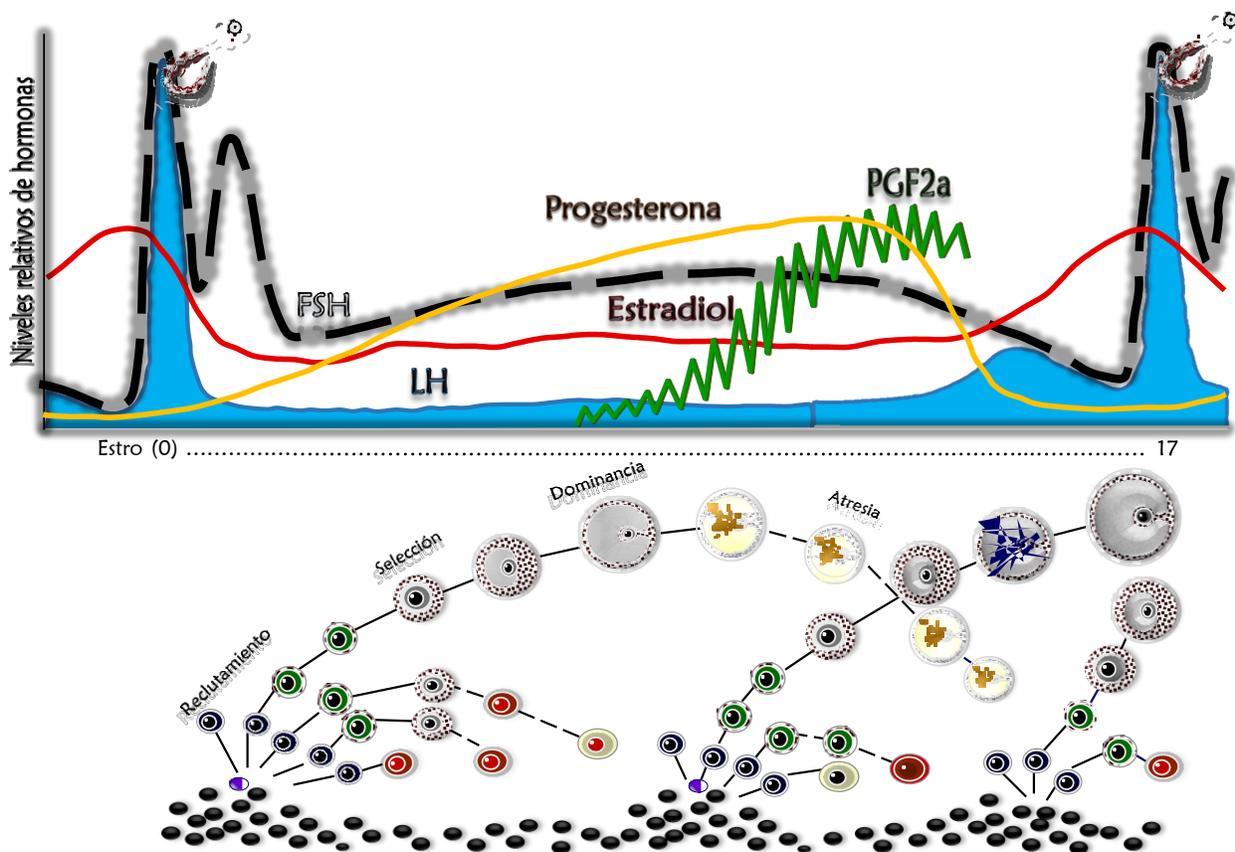


Figura 2. Perfiles hormonales durante el ciclo estral en la oveja (Gallegos *et al.*, 2015).

Las gonadotropinas, folículo estimulante (FSH) y luteínizante (LH), son sintetizadas por la hipófisis anterior y estimulan el crecimiento folicular, la ovulación y la función lútea, como respuesta a la liberación de GnRH por el hipotálamo. El patrón de liberación de este factor está dado por un sinergismo entre el estradiol y la progesterona producidos por las gónadas (Karsch *et al.*, 1993). La FSH, es responsable del crecimiento y desarrollo folicular, disminuye su concentración 2 ó 3 días antes del estro (Lamb *et al.*, 2010). El incremento de estradiol provoca la ovulación en la oveja y además, sensibiliza al sistema nervioso central (SNC) para la presentación de estro, el cual tiene una duración de 24 a 48 h (Caraty *et al.*, 2002).

El estradiol actúa mediante un mecanismo de retroalimentación positiva para inducir el pico preovulatorio de LH, el cual se presenta de 4 a 8 h después de iniciado el estro (Skinner *et al.*, 2001). Los niveles más bajos de progesterona durante el ciclo estral se aprecian durante los primeros tres días después del estro (0.1 – 0.2 ng ml⁻¹); a partir del cuarto día comienzan a elevarse llegando a su nivel máximo alrededor del día 10 y manteniéndose hasta por 5 ó 7 días; estas concentraciones comienzan a disminuir entre el día 14 y 15 del ciclo estral, regresando a concentraciones bajas el día del estro, seguido por la presentación del estro en las 24 horas siguientes (Arroyo *et al.*, 2007).

Una vez ocurrido el proceso de empadre, la concentración de P4 es esencial para el mantenimiento de la gestación. En ovinos, el recorrido del cigoto por el oviducto para llegar al útero se realiza en los primeros cuatro días post fecundación (Ruiz, 2013), momento en el que el blastocisto depende de la P4 producida por el cuerpo lúteo; hacia los días 10-11 el blastocisto comienza una fase de elongación en el que éste comienza a emitir una señal que permitirá el reconocimiento de la gestación (Spencer *et al.*, 2004) por acción de la molécula de Interferón-tau (IFN- τ), previniendo la luteólisis al inhibir la secreción pulsátil de PGF2 α por parte del útero. En la oveja, la fase de implantación se inicia a partir del día 15 de gestación, culminando hasta los días 50-60 (Spencer *et al.*, 2004). En caso de no cumplirse el proceso de fecundación, el útero después de un periodo de sensibilización a la progesterona, inicia una ligera secreción de PGF2 α , ocasionando así una disminución en la producción de progesterona; esta caída en la producción de progesterona estimula una mayor liberación de la prostaglandina produciendo así la regresión total del cuerpo lúteo (Lea y Sandra, 2007).

2.15. Sincronización de Estro

La sincronización de estros es realizada con el objetivo simular la actividad ovárica, propiciando la presencia de estro y ovulación en mayor porcentaje de hembras en un periodo corto durante la época reproductiva (Aisen, 2004). Se han planteado diferentes programas de sincronización:

1. Progestágenos: El uso de progestágenos se basa en el control de la fase lútea del ciclo estral proporcionando progesterona exógena, utilizando esponjas de poliuretano impregnadas con acetato de medroxiprogesterona (MAP) o acetato de fluorogestona (FGA) (Wildeus, 2000; Uribe *et al.*, 2008), otra alternativa es el uso del dispositivo de liberación controlada de progesterona *Control Internal Drug Release* (CIDR) (Ozyurtlar *et al.*, 2010), el cual incrementa los niveles plasmáticos de progesterona simulando la presencia de un cuerpo lúteo funcional, alcanzando su máxima concentración después de las 48 horas, produce estros altamente sincronizados a las 36-44 horas después de remover el dispositivo intravaginal (Bister *et al.*, 1999; Sharkey *et al.*, 2001), los progestágenos pueden mantenerse de 9 a 12 días en ovejas en anestro y 12 días en ovejas en época reproductiva (Gallegos *et al.*, 2015).
2. Prostaglandinas: Al utilizar prostaglandinas exógenas o sus análogos sintéticos se induce la luteólisis, reduciendo la duración de la fase lútea (González-Bulnes *et al.*, 2005), por lo que éste método está limitado a hembras en época reproductiva (González -Bulnes *et al.*, 2005). Con la aplicación de prostaglandinas se espera la presencia de estros entre las 36 y 48 h posteriores a su aplicación; con la aplicación de 2 inyecciones de prostaglandinas con intervalo de 9 a 11 días se estima buena respuesta a estro (Arroyo *et al.*, 2012).
3. Gonadotropinas: La aplicación de análogos de gonadotropinas (GnRH, eCG, PMSG, FSH, hCG), estimulan el crecimiento y maduración folicular por lo que tienen actividad similar

a la FSH y LH (Dias *et al.*, 2001). La gonadotropina coriónica equina es la más implementada debido a su bajo costo, larga vida media y disponibilidad en el mercado (Mejía y Palma, 2010), se aplica una inyección de eCG a la par del retiro de los progestágenos (Abecia *et al.*, 2011).

III. HIPÓTESIS

La pulpa de café en la dieta de ovejas primaras durante la sincronización del estro mejora la eficiencia reproductiva.

IV. OBJETIVO

Evaluar el estado oxidativo y eficiencia reproductiva de ovejas primaras suplementadas con pulpa de café durante la sincronización del estro.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo de investigación se realizó en la granja experimental del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Se encuentra ubicado en la región oriente del Estado de México, situado en la comunidad de Montecillo, Texcoco, Estado de México en las coordenadas geográficas 19° 29' N y 98° 53' O, con una altitud de 2,241 msnm, con clima templado subhúmedo con una precipitación media anual de 632,5 mm y una temperatura anual entre 12 y 18°C (García, 1988).

5.1. Animales

Se utilizaron 60 ovejas primaras de las cruzas Dorset y Suffolk, con peso promedio de 48.66 ± 5.18 kg y condición corporal de 3 en escala de 1 a 5 (Russel *et al.*, 1969), durante la época reproductiva de septiembre de 2015 y hasta a abril de 2016.

5.2. Tratamientos

Los tratamientos estuvieron constituidos por tres niveles de pulpa de café; donde T0: ovejas suplementadas con 1.5 kg de dieta integral sin inclusión de pulpa de café; T1: ovejas suplementadas con 1.5 kg de dieta integral al 5% de inclusión de pulpa de café; T2: ovejas suplementadas con 1.5 kg de dieta integral al 10% de inclusión de pulpa de café, cada tratamiento con 20 ovejas, distribuidas en un diseño completamente al azar, alojadas en corraletas individuales durante la suplementación (16 días, Cuadro 1), posteriormente fueron agrupadas y alimentadas con avena a libre acceso hasta el momento del parto.

5.3. Dietas

La cereza de café (*Coffea arabica*) para obtención de pulpa de café se obtuvo en el municipio de San Juan Lachao, Oaxaca, México, el cual está ubicado a 16° 09' N y 97° 07' O a 600 msnm, con un promedio de precipitación de 2,200 mm anuales (INEGI, 2016), el despulpado se realizó en húmedo dentro de las 12 horas después de la cosecha y fue sometida a un proceso de deshidratación seguido de un proceso de molido para facilitar su integración.

Las dietas fueron balanceadas para cubrir los requerimientos de acuerdo al NRC (1985) (Cuadro 1), y analizadas para determinación de la capacidad antioxidante mediante un extracto obtenido siguiendo la metodología descrita por Restrepo *et al.* (2009), y usando la técnica FRAP (poder antioxidante de reducción férrica) de Benzie y Strain (1996) para la determinación de la capacidad antioxidante del extracto.

La suplementación se realizó por un periodo de 16 días (Figura 3) iniciando 2 días antes de insertar el progestágeno hasta el momento del empadre; se utilizó una dieta integral que fue ofrecida en dos tiempos (8:00 y 16:00 h).

Cuadro 1. Composición de las dietas utilizadas para la suplementación de las ovejas durante la sincronización del estro

INGREDIENTE	T0	T1	T2
Maíz grano %	24.27	24.27	24.27
Pasta de soya %	9.04	9.04	9.04
Melaza %	5.27	5.27	5.27
Sal mineral* (%)	0.95	0.95	0.95
Pulpa de café (%)	0.00	5.00	10.00
Heno de avena %	60.47	55.47	50.47
TOTAL	100	100	100
COMPOSICIÓN ESTIMADA (%)			
MS	95.28	95.20	95.15
PC	12.01	12.09	12.13
Mcal EM/kg	2.4	2.4	2.4
FC	22.92	22.0	22.1
Cenizas	7.66	7.44	7.34

* Fósforo (17.5%), Sodio (12.9%), Calcio 5.6%, Magnesio 3.4%.

T0: ovejas suplementadas con 1.5 kg de dieta integral sin inclusión de pulpa de café, T1: ovejas suplementadas con 1.5 kg de dieta integral al 5% de inclusión de pulpa de café, T2: ovejas suplementadas con 1.5 kg de dieta integral al 10% de inclusión de pulpa de café.

MS: materia seca, PC: proteína cruda, FC: fibra cruda.

5.3.1. Capacidad antioxidante de las dietas

La determinación de la capacidad antioxidante de las dietas fue realizada mediante un extracto obtenido siguiendo la metodología descrita por Restrepo *et al.* (2009) realizando pequeñas modificaciones. Esta consistió en realizar un lavado a 0.50 g de dieta con 10 ml de una solución metanol - agua 50-50 acidificada con HCl 2N a un pH de 2. Se agitó durante 60 minutos a 37°C y se centrifugó a 3,000 rpm durante 15 minutos a 4°C. Al término se recolectó el sobrenadante, el precipitado resultante fue tratado con un solución 70-30 de acetona-agua, se agitó y centrifugó siguiendo el proceso anterior, de igual forma se extrajo el sobrenadante y se mezcló con el primero;

la mezcla resultante se utilizó para determinación de capacidad antioxidante usando la técnica FRAP (poder antioxidante de reducción férrica) de Benzie y Strain (1996), con la única modificación de que la agitación en la incubadora se realizó durante 20 minutos, previo a la lectura en un espectrofotómetro a 593 nm, efectuando curvas de calibración Trolox (ácido 6-hidroxi-2-5-7-8-tetrametil-croman-2-carboxílico) a diferentes concentraciones para la interpretación.

5.4. Sincronización de estros

La presincronización se realizó aplicando dos dosis de 125 µg de prostaglandina F2α (cloprostenol), al día -11 y -3, seis días posteriores a la segunda aplicación de prostaglandinas se les insertó un dispositivo intravaginal impregnado con 0.3 g de progesterona (CIDR®) por 11 días (Figura 3) y al día 12 de la fase experimental recibieron otra dosis de PGF2α. A partir de las 12 horas de retiro del progestágeno se inició la detección de estros con machos marcadores con mandil protector a intervalos de 6 horas dando seguimiento hasta las 78 h para determinar la duración de estros. Las montas se realizaron con 13 sementales de las cruzas Dorset x Suffolk a las 12 y 24 h, después de detectado el celo; los retornos a estro se detectaron de los 15 a los 18 días posteriores a las montas (mañana y tarde).

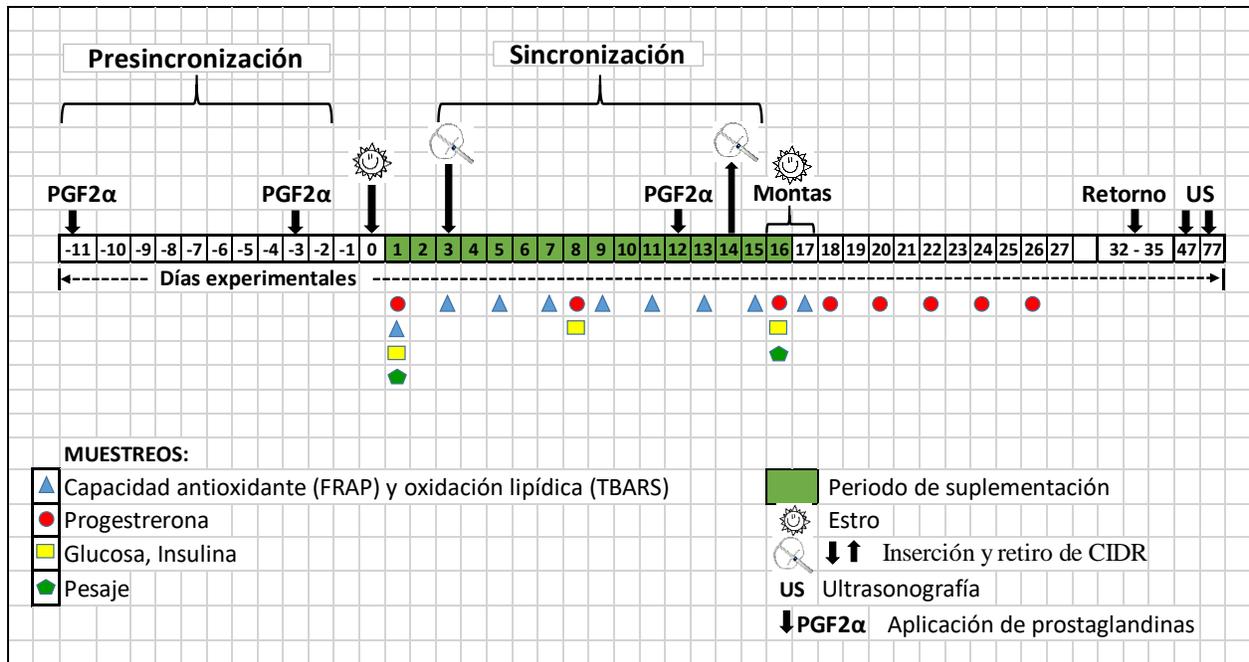


Figura 3. Programa de sincronización y toma de muestras para medir estado oxidativo, concentración de progesterona, glucosa e insulina, en ovejas suplementadas con pulpa de café en la dieta

CIDR: Dispositivo vaginal liberador de progesterona que permaneció insertado durante 11 días en ovejas primarias.

5.5. Ultrasonografía

Para la determinación de la gestación en las ovejas, se realizó una medición con un ultrasonido de tiempo real Sonovet 600 y transductor lineal de 7.5 Mhz a los 30 y 60 días post monta (días experimentales 47 y 77), por vía transrectal (Figura 3).

5.6. Muestras

Se obtuvieron muestras sanguíneas para determinación de progesterona, glucosa, insulina, capacidad antioxidante y oxidación lipídica, punzando la vena yugular de las ovejas en estado de ayuno (8:00 h), se colectaron en tubos vacutainer de 5ml con EDTA. Todas las muestras sanguíneas fueron centrifugadas después de su recolección para la obtención de plasma sanguíneo a 2,500 rpm durante 20 minutos a 4 °C en una centrífuga marca SIGMA 2-16 PK; el plasma fue depositado en tubos Eppendorf de 1.5 ml y almacenado a -196° C hasta su análisis.

5.7. Variables evaluadas

5.7.1. Inicio de estro: El inicio de estro se midió a partir de que las ovejas permitieron que los machos las montaran, hasta el momento en que ya no aceptaban la monta.

5.7.2. Duración de estro: Se dio seguimiento al estro desde la detección del mismo hasta las 78 horas con intervalos de cada 6 horas entre cada detección.

5.7.3. Porcentaje de gestación: Para el cálculo del porcentaje de gestación se dividió el total de ovejas gestantes determinado por el diagnóstico de gestación entre el total de ovejas que recibieron monta.

5.7.4. Número de crías: Se determinó dividiendo el total de corderos nacidos entre el total de ovejas paridas.

5.7.5. Peso al nacimiento: Se determinó el peso de las crías durante las primeras 12 horas de su nacimiento.

Antioxidantes y hormonas

5.7.6. Capacidad antioxidante

Para la determinación de la capacidad antioxidante y oxidación lipídica se realizaron nueve muestreos, cada tercer día iniciando dos días antes de la sincronización (día experimental 1) y hasta el momento del empadre (día experimental 17, Figura 3).

Para el análisis de las muestras se utilizaron las técnicas de poder antioxidante de reducción férrica (FRAP) de Benzie y Strain (1996), preparando una mezcla de buffer de acetato 300 mM ajustado a un pH de 3.6, más una solución 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) 10 mN disuelto en HCL a una concentración de 40 mM y una solución acuosa de cloruro férrico hexahidratado (Fe

III) 20 mM, en una relación 10:1:1 llamándola mezcla de reacción; de esta mezcla se tomó 1.5 ml más 50 μ L de muestra y se agregaron a un tubo de ensayo para incubarse a 37 °C por 10 min y ser leídas por espectrofotometría a 593 nm, utilizando como estándar 6-hidroxi-2-5-7-8-tetrametil-croman-2-ácido carboxílico (trolox) a concentraciones de 0.2 mM, 0.4 mM, 0.8 mM y 1.6 mM para calcular los resultados.

5.7.7. Oxidación lipídica

La oxidación lipídica se analizó mediante determinación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) de acuerdo a la técnica de Ohkawa *et al.* (1979), colocando en tubos de centrifuga 100 μ L de muestra, 1 ml de ácido tiobarbitúrico al 0.8%, 2 ml de ácido acético al 20% ajustado a pH 2.5; las muestras se incubaron manteniéndose en ebullición durante 60 minutos y posteriormente se enfriaron en agua con hielo. Ya frías se les agregó 5 mL de n-butanol (n-butyl alcohol), se agitaron vigorosamente durante 12 segundos para ser centrifugadas a 4,000 rpm durante 10 minutos; la lectura se realizó tomando el sobrenadante resultado de la centrifugación, se midió por espectrofotometría a 532 nm. Para el cálculo de los resultados se utilizaron diferentes concentraciones (1, 2, 4, 8 mM) de malondialdehído (MDA), obtenido por hidrólisis ácida a partir de 1, 1, 3, 3- tetraetoxipropano.

5.7.8. Progesterona

Para determinación de concentraciones de progesterona se colectaron ocho muestreos por animal, el primero dos días antes de la inserción del progestágeno coincidiendo con el inicio de la suplementación (día experimental 1), el segundo a la mitad del periodo de suplementación (día experimental 8), un tercero al término de la misma (día experimental 16), y cinco muestreos cada tercer día posteriores al empadre (días experimentales 18, 20, 22, 24 y 26, Figura 3). Las muestras se analizaron mediante ensayo inmunoenzimático (Immunometrics, UK Ltd, 280 Muster Road,

London SW6 6BQ). La sensibilidad analítica fue de 0.13 ng mL⁻¹ con coeficiente de variación intra e inter ensayo de 9.59 y 13.7%, respectivamente.

5.7.9. Glucosa e insulina

Para el análisis de glucosa e insulina se realizaron 3 muestreos: al inicio (día experimental 1), a la mitad (día experimental 8) y un tercero al final del periodo de suplementación (día experimental 16, Figura 3). El análisis de insulina en plasma se realizó por RIA con una sensibilidad de 4,09 ng ml y coeficientes de variación intra e inter ensayo de 1,44 y 0,25%. Las determinaciones de glucosa se realizaron mediante el método enzimático a base de glucosa oxidasa, marca Pointe Scientific, Inc, EEUU.

5.8. Análisis estadístico

Las variables se analizaron bajo un modelo completamente al azar, se realizaron pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas a cada una de las variables, los datos que no cumplieron con dicha normalidad fueron transformados para su análisis por medio de logaritmos naturales si no tenían ceros o logaritmos naturales + 1 cuando presentaban valores cercanos al cero, los datos de las variables número de crías y porcentaje de gestación se analizaron con una prueba de X^2 bajo el procedimiento PROC FREQ de SAS. A las variables porcentaje de partos, peso al nacimiento, inicio y duración de estros se les aplicaron pruebas de comparación de medias de TUKEY mediante el procedimiento PROC GLM (SAS, 2002).

Para las variables capacidad antioxidante, oxidación lipídica, glucosa, insulina y progesterona, se realizó un análisis de mediciones repetidas a través del tiempo por medio del procedimiento PROC MIXED; los valores medios fueron comparados por el método de mínimos

cuadrados mediante la prueba de LSD cumpliendo con el modelo de convergencia, aplicando la prueba de Tukey-Kramer.

Los resultados fueron obtenidos por el paquete de cómputo sistema de análisis estadístico (SAS) en su versión 9.0 (2002).

$Y_{ijk} = \mu + T_i + M_j + T_iM_j + A_k(i) + E_{ijk}$. Donde:

Y_{ijk} = Respuesta del i-ésimo tratamiento en el j-ésimo muestreo de la k-ésima repetición

μ =Media general

T_i = Efecto del i-ésimo parto

M_j = Efecto del j-ésimo muestreo

T_iM_j = Efecto del i-ésimo tratamiento en el j-ésimo muestreo

$A_k(i)$ = Efecto del i-ésimo tratamiento anidado al k-ésimo animal

E_{ijk} = Error experimental.

Para las variables que mostraron diferencia significativa ($P < 0.05$) se les realizó una prueba de Tukey.

VI. RESULTADOS

6.1. Capacidad antioxidante de las dietas

La capacidad antioxidante de las dietas utilizadas en la alimentación de las ovejas aumentó al incrementarse la pulpa de café. En la dieta testigo (T0) se obtuvo 45.18 $\mu\text{mol trolox/g MS}$, 51.55 en la dieta con el 5% y la mayor capacidad antioxidantes se encontró en la dieta con el 10% de pulpa de café con 137.02 $\mu\text{mol trolox/g MS}$ (Cuadro 2).

Cuadro 2. Capacidad antioxidante de las dietas utilizadas en la suplementación de ovejas primaras durante la sincronización del estro

VARIABLE	T0	T1	T2
	0%	5%	10%
FRAP ($\mu\text{mol trolox/g MS}$)	45.18	51.55	137.02

T0: ovejas suplementadas con 1.5 kg de dieta integral sin inclusión de pulpa de café, T1: ovejas suplementadas con 1.5 kg de dieta integral al 5% de inclusión de pulpa de café, T2: ovejas suplementadas con 1.5 kg de dieta integral al 10% de inclusión de pulpa de café.

6.2. Variables reproductivas

Después del retiro del CIDR el estro se presentó en el 100% de las ovejas de los tres tratamientos. La inclusión de pulpa de café en las dietas al 5 y al 10% no modificó el inicio y duración de estro, porcentaje de gestación a los 30 y 60 días, número de crías y peso al nacimiento ($P>0.05$) (Cuadro 3).

6.2.1. Inicio de estro

El estro se presentó en el 100% de las ovejas, iniciando a las 32.7 horas en el tratamiento sin inclusión de pulpa de café (T0), seguido por las 34.8 horas en los tratamientos con 5 y 10% de

inclusión de pulpa (T1 y T2), después del retiro del CIDR, sin existir diferencias estadísticas entre tratamientos ($P < 0.05$).

6.2.2. Duración de estro

La duración del estro no se modificó por la inclusión de pulpa de café, siendo estadísticamente similares entre los tres tratamientos ($P < 0.05$), teniendo una duración de 28.2 horas en el tratamiento T0 (sin pulpa de café), 27.6 horas en el tratamiento T1 (5% de inclusión de pulpa de café) y 27.0 horas en el tratamiento T2 (10% de inclusión de pulpa de café).

6.2.3. Porcentaje de gestación

No hubo diferencias estadísticas entre tratamientos, los porcentajes de gestación no se modificaron por la inclusión de pulpa de café en la dieta. En los tratamientos T0 (sin pulpa de café) y T1 (5% de inclusión) se obtuvo un 90% de gestación y en el tratamiento T2 (10% de inclusión) el porcentaje de gestación fue de 95%.

6.2.4. Numero de crías

En el tratamiento sin inclusión de pulpa de café (T0) se obtuvo un promedio de 1.38 crías por oveja, para el tratamiento T1 con 5% de inclusión de pulpa de café 1.23 crías por oveja y en el tratamiento con 10% de inclusión un total de 1.25 crías por oveja, sin observarse diferencias estadísticas entre tratamientos ($P > 0.05$).

6.2.5. Peso al nacimiento

Los pesos de las crías no fueron afectados por la inclusión de pulpa de café ($P > 0.05$), las crías de las ovejas del tratamiento T0 (sin pulpa) alcanzaron un peso promedio de 4.20 kg, en el tratamiento T1 (5% de inclusión) el peso promedio fue de 4.46 kg y 4.38 kg en el tratamiento T2 (10% de inclusión).

Cuadro 3. Variables reproductivas en ovejas sincronizadas y suplementadas con pulpa de café en la dieta

	T0 (0%)	T1 (5%)	T2 (10%)	P>F
Inicio de estro (horas)	32.7	34.8	34.8	0.145
Duración de estro (horas)	28.2	27.6	27.0	0.892
Gestación 30 días (%)	(18/20) 90	(18/20) 90	(19/20) 95	0.806
Gestación 60 días (%)	(18/20) 90	(18/20) 90	(19/20) 95	0.806
Número de crías	1.38 ± 0.50	1.23 ± 0.43	1.25 ± 0.44	0.540
Peso al nacimiento (kg)	4.20 ± 0.81	4.46 ± 0.94	4.38 ± 0.71	0.571

T0: ovejas suplementadas con 1.5 kg de dieta integral sin inclusión de pulpa de café, T1: ovejas suplementadas con 1.5 kg de dieta integral al 5% de inclusión de pulpa de café, T2: ovejas suplementadas con 1.5 kg de dieta integral al 10% de inclusión de pulpa de café. Pr>F: Nivel de significancia. Letras iguales en la misma hilera representan medias similares (P>0.05).

6.3. Capacidad antioxidante en sangre

La capacidad antioxidante en plasma sanguíneo se incrementó (P<0.05) conforme aumentó el porcentaje de inclusión de pulpa de café, siendo mayor en las ovejas alimentadas con el 10% de inclusión, seguido de la suplementación con 5 % y por último el tratamiento testigo (Cuadro 4).

Durante los muestreos realizados se observó que posterior al retiro del progestágeno la capacidad antioxidante disminuye, ocurriendo en esta etapa el empadre y la fertilización (Figura 2).

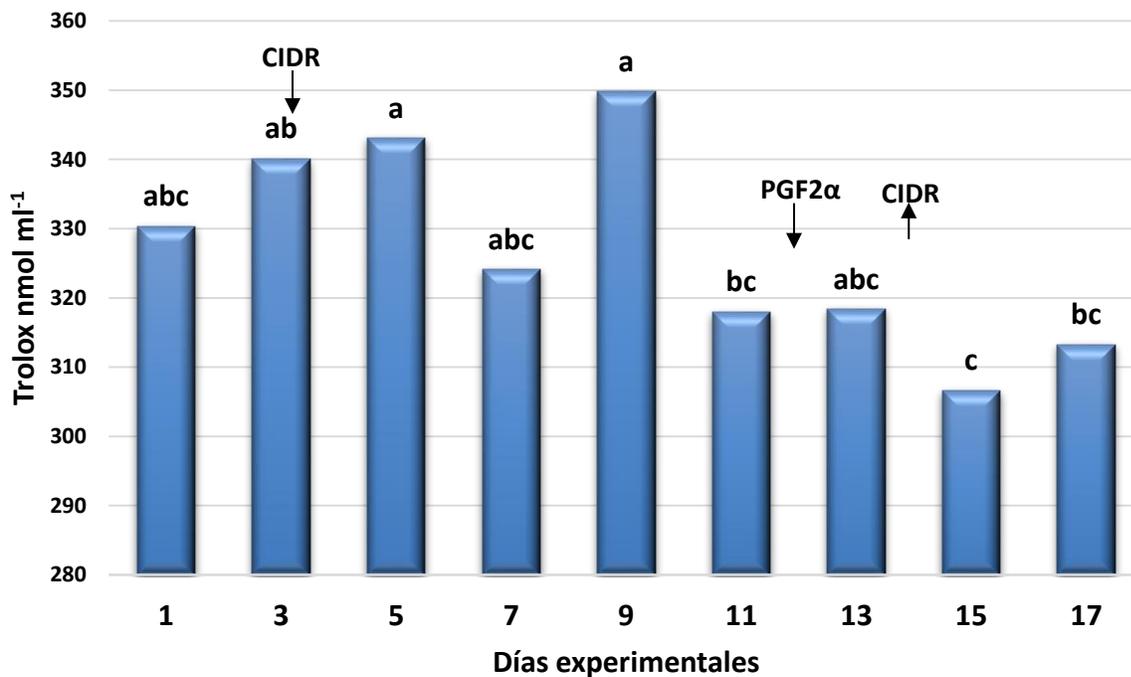


Figura 4. Capacidad antioxidante en ovejas primaras durante la sincronización del estro con progestágeno

CIDR: Dispositivo liberador de progesterona, PGF2α: Prostaglandinas. a,b,c: Letras distintas indican diferencias estadísticas (P<0.05).

6.4. Oxidación lipídica

La inclusión del 10% de pulpa de café en la dieta redujo (P<0.05) la oxidación lipídica en plasma con respecto a las ovejas testigo. Aunque estadísticamente (P>0.05) no existió diferencia entre la inclusión del 10 y 5%, numéricamente se observó que al incrementarse la inclusión de pulpa de café en la dieta la oxidación lipídica en la sangre disminuyó (Cuadro 4). Con respecto a la fecha de muestreo, no se mostró una tendencia clara de oxidación lipídica a través de los muestreos. Los valores más bajos (P<0.05) se encontraron entre los días experimentales 9 al 15 (correspondientes a 5 días antes del retiro del progestágeno y 5 días posteriores a su retiro) con respecto a los días 1, 5, 7 y 17 (Figura 5).

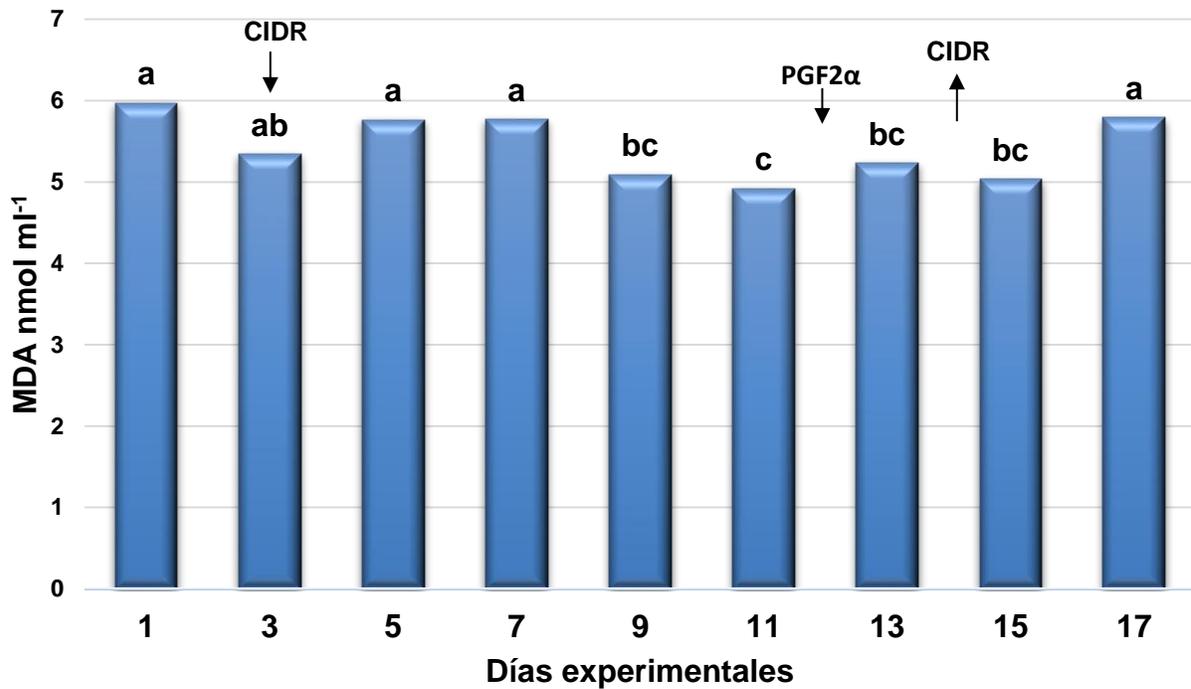


Figura 5. Oxidación lipídica en ovejas primaras durante la sincronización del estro con progestágeno

CIDR: Dispositivo liberador de progesterona, PGF2α: Prostaglandinas. a,b,c: Letras distintas indican diferencias estadísticas (P<0.05).

Cuadro 4. Capacidad antioxidante y oxidación lipídica en ovejas alimentadas con diferente nivel de inclusión de pulpa de café durante la sincronización de estros

Tratamiento	Trolox (nmol ml ⁻¹)	EEM	MDA (nmol ml ⁻¹)	EEM
T0	285.79 c	0.03	5.99 a	0.05
T1	331.56 b	0.03	5.22 ab	0.05
T2	363.85 a	0.03	5.02 b	0.05

a,b,c: Letras distintas en la misma columna indican diferencias (P<0.05).

T0: tratamiento testigo; T1: ovejas alimentadas con 5% de pulpa de café y T2: ovejas alimentadas con 10% de pulpa de café. FRAP: Poder antioxidante de reducción férrica; MDA: malondialdehído.

6.5. Concentración de progesterona

No se observaron diferencias estadísticas ($P>0.05$) en las concentraciones de progesterona al incluir 5 y 10% de pulpa de café en la dieta de ovejas primaras durante la sincronización del estro. Referente a la fecha de muestreo se observó una mayor concentración de progesterona ($P<0.05$) cuando las borregas tenían el CIDR (día experimental 8), disminuyéndose posterior a su retiro, seguido de un incremento gradual a partir del día experimental 18, correspondiente a un día posterior al empadre (Figura 6) y manteniendo un perfil normal de secreción.

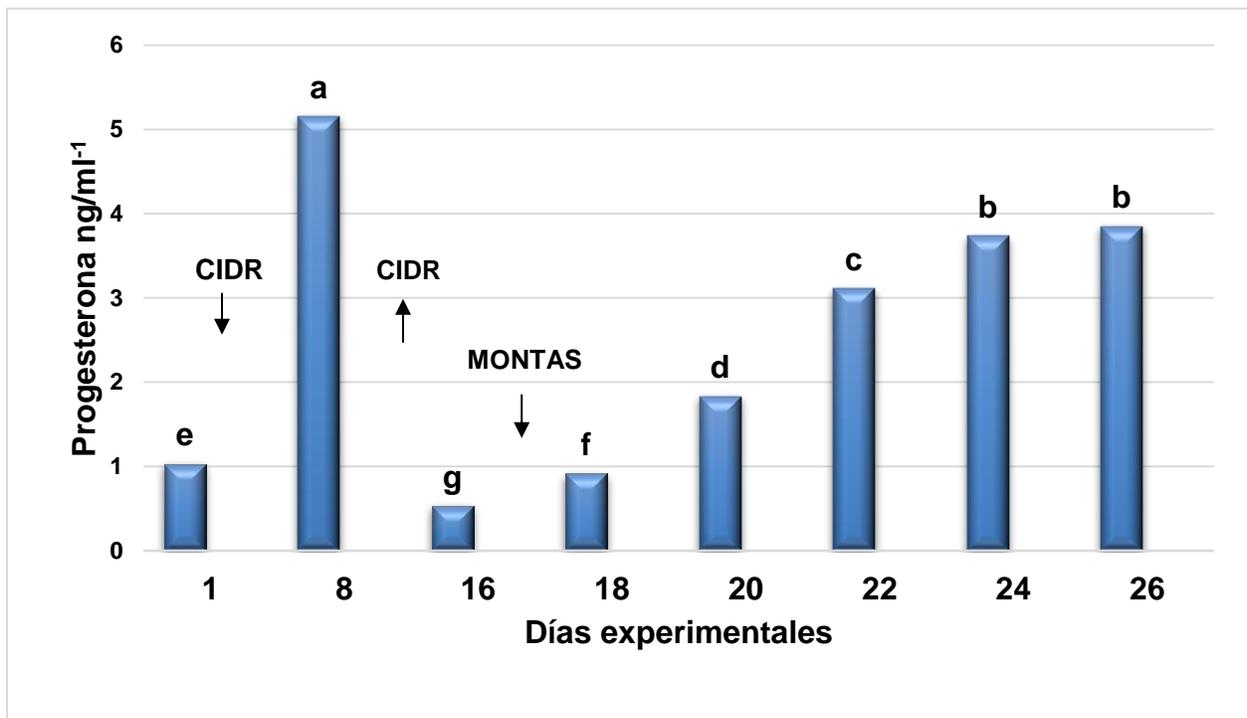


Figura 6. Concentración de progesterona en ovejas primaras durante la sincronización de estro con prostaglandinas e inicio de la gestación.

CIDR: Dispositivo liberador de progesterona, PGF2 α : Prostaglandinas. a,b,c: Letras distintas indican diferencias estadísticas ($P<0.05$).

6.6. Concentración de glucosa e insulina en suero sanguíneo

La adición de 5 y 10% de pulpa de café en la dieta no modificaron ($P>0.05$) el contenido de glucosa e insulina (Cuadro 5). En los tres tratamientos se observó una mayor concentración de glucosa e insulina ($P>0.05$) en los últimos dos muestreos realizados, que corresponden a cuando las ovejas estaban siendo suplementadas (Cuadro 5).

Cuadro 5. Concentración de glucosa e insulina en ovejas primaras suplementadas con pulpa de café durante la sincronización de estro

Muestreo	Glucosa (mg/dl-1)	EEM	Insulina (ng ml -1)	EEM
1	62.60 b	0.014	0.39 b	0.019
2	65.40 a	0.014	0.51 a	0.019
3	65.26 a	0.014	0.49 a	0.019

a,b,c: Letras distintas en la misma columna indican diferencias ($P<0.05$).

VII. DISCUSIÓN

Debido a los compuestos antioxidantes de la pulpa de café (Arellano *et al.*, 2011; Murthy y Naidu, 2012), al incrementar su inclusión en la dieta la capacidad antioxidante se incrementa. Como fuente de forraje se utilizó heno de avena y el reemplazo del 5% por pulpa de café incrementó ligeramente la capacidad antioxidante; sin embargo, la inclusión del 10 % incrementó más de tres veces la capacidad antioxidante, por lo que sugerimos que la inclusión de pulpa de café es factible cuando se tiene dietas con poca cantidad de antioxidantes, ya que se necesita poca cantidad de este subproducto para mejorar el estado antioxidante de las dietas.

7.1. Respuesta reproductiva

En los tres tratamientos el 100% de las ovejas presentaron estro sin obtener diferencias entre tratamientos ($P>0.05$), confirmando la efectividad del CIDR utilizado para la sincronización: el inicio de estro se presentó a las 32 horas en el tratamiento T0, y a las 34 horas en los tratamientos T1 y T2 después de haber retirado el CIDR, resultados similares a las 32 horas fueron reportados por Castro (2010) y 34 horas por Fraire-Cordero *et al.* (2013), quienes de igual forma utilizaron progestágenos para la sincronizar estros en ovejas. La duración de estro no fue modificada por la inclusión de pulpa de café, en el tratamiento T0 la duración de estro fue de 28.2 horas, para los tratamientos T1 y T2, con 27.6 y 27 horas respectivamente; Arroyo-Ledezma *et al.* (2013) reportaron una mayor duración de celo, con un promedio de 54.2 horas en ovejas sincronizadas utilizando CIDR + eCG y 51.8 horas en ovejas sincronizadas con dos dosis de prostaglandinas. Cedillo (2008) reportó una duración de celo de 40.6 horas utilizando esponjas vaginales impregnadas con FGA durante 11 días más aplicación de eCG y PGF2 α , sin embargo, los resultados se encuentran dentro de los rangos reportados por Quirke *et al.* (1979) y Gordon (1997), quienes indican que la duración de estro en ovejas se encuentra en un intervalo de 24 a 56 horas.

En este estudio la inclusión de antioxidantes en la dieta de ovejas mediante la pulpa de café no afectó los porcentajes de gestación; Salinas *et al.* (2016), encontraron que una suplementación con 450 g de concentrado con 25% de pulpa de café (lo que corresponde a un consumo de pulpa de café de 112.5 g diarios) 25 días antes y 25 días después del retiro del progestágeno disminuyó el porcentaje de gestación, lo cual se atribuyó a la cafeína presente en la pulpa de café. Si se considera que las ovejas consumieron 1.5 kg de alimento, el consumo de pulpa, fue de 75 g para el tratamiento con el 5% de inclusión y 150 g en el tratamiento con 10%. En promedio, la inclusión de pulpa al 5% corresponde a un nivel inferior y la inclusión del 10% a un nivel superior al suministrado previamente (Salinas *et al.*, 2016); por lo que suponemos que el suministro de pulpa hasta en un 10% de la dieta por un periodo corto es factible, aunque se tendría que evaluar la inclusión máxima.

Se ha reportado que los efectos adversos de la pulpa en la reproducción desaparecen al dejarse de suplementar, ya que en el trabajo de Salinas *et al.* (2016) se observó que posterior a que se finaliza la suplementación con pulpa de café ya no existieron más pérdidas en la gestación. En este estudio las variables reproductivas no fueron afectadas al realizar la suplementación solo en la etapa de sincronización de estros.

7.2. Estado oxidativo

La capacidad antioxidante en plasma sanguíneo de las ovejas fue mayor al incrementar el porcentaje de inclusión de pulpa de café; mientras que la concentración de malondialdehído siguió una tendencia inversa, lo que indica que los antioxidantes de la pulpa de café ayudan a reducir la lipoperoxidación. En estudios recientes ha sido comprobada la capacidad que tienen algunas plantas para contrarrestar la oxidación lipídica; Pérez-Hernández (2013) observó que los compuestos extraídos del arándano (*Vaccinium meridionale SW*) tienen la capacidad de reducir la

oxidación lipídica en el aceite de maíz, al adicionar dichos extractos a 50g de aceite de maíz la oxidación lipídica fue disminuida, de igual forma Londoño *et al.* (2013) evaluaron la actividad antioxidante de diferentes tipos de café comprobando la capacidad de estos para evitar la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL). Por otra parte, Zhang *et al.* (2011) encontraron que al adicionar antioxidantes a la dieta de gallinas reproductoras se incrementó la incubabilidad de huevos fértiles, incrementando el número de pollitos eclosionados. En el presente estudio no fueron tan evidentes los beneficios en la reproducción al mejorar el estado antioxidante en las ovejas, probablemente porque el porcentaje de gestación en el grupo testigo fue de 90% el cual es un valor alto; sin embargo quedaría pendiente evaluar los beneficios de la pulpa de café en estados de estrés oxidativo donde el requerimiento de antioxidantes se incrementa.

7.3. Progesterona

La pulpa de café no afecta la concentración de progesterona en ovejas. La mayor concentración de progesterona que se encontró cuando las ovejas tenían el progestágeno se debe a que aunado al cuerpo lúteo que se encontraba en ese momento en los ovarios de las ovejas, existió una fuente exógena de progesterona proveniente del dispositivo intravaginal. Con este estudio comprobamos que es posible la suplementación de pulpa de café por un periodo corto previo al empadre sin que esta hormona sea modificada, pues la progesterona es la principal hormona encargada de mantener la preñez y sus bajas concentraciones al inicio de la gestación son desencadenantes de abortos (Diskin y Morris, 2008); y su incremento está asociado a mejorar los porcentajes de gestación (Flores *et al.*, 2013).

7.4. Glucosa e Insulina

Las concentraciones de glucosa e insulina no se modificaron por la inclusión de pulpa de café en la dieta, presentándose en este estudio concentraciones de glucosa en un rango de 62.60 a

65.40 mg/dl entre tratamientos durante la sincronización del estro, coincidiendo con Balaro *et al.* (2015) quienes encontraron una concentración promedio de 64.8 mg/dl en ovejas bajo condiciones tropicales. El rango óptimo de glucosa está entre 50 y 80 mg/dl (Kaneko, 1980), por lo que los tres tratamientos en los tres muestreos estuvieron dentro de las concentraciones normales.

En este estudio las concentraciones de insulina se encontraron en un rango de 0.39 a 0.51 ng/ml entre tratamientos durante la sincronización del estro. Se ha encontrado que el suministro de concentrado incrementa las concentraciones de insulina y glucosa (Razz y Clavero, 2004; Noro *et al.*, 2006). Esto coincide con los resultados encontrados en el presente estudio, ya que a pesar que la pulpa de café no modificó las concentraciones de glucosa e insulina en ovejas, estas incrementaron en los muestreos cuando se encontraban consumiendo concentrado.

VIII. CONCLUSION

Es posible la inclusión de pulpa de café en la dieta de ovejas hasta el 10% por 16 días previo al empadre, ya que mejora el estado oxidativo de las borregas y no tiene un efecto perjudicial en las variables reproductivas y concentraciones de progesterona, glucosa e insulina, no obstante los niveles máximos de inclusión y los tiempos críticos de suplementación deben ser investigados para determinar beneficios adicionales en la reproducción.

IX. LITERATURA CITADA

- Abecia, J. A., Forcada, F., González-Bulnes, A. 2011. Pharmaceutical control of reproduction in sheep and goats. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 27, 67-79.
- Acosta, I. R., Márquez-Araque, A., Huerfano, T., Chachón, I. 1997. Evaluación de pulpa de café en aves: digestibilidad y energía metabolizable. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*. 5, 311-312.
- Agarwal, A., Gupta, S., Sikka, S. 2006. The role of free radicals and antioxidants in reproduction. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*. 18, 325-32.
- Agarwal, A., Saleh, R. A. 2002. Role of oxidants in male infertility: Rationale, significance, and treatment. *Urologic Clinics of North America*. 29(4), 817-27.
- Aisen, E. G. 2004. Reproducción ovina y caprina. En: Preparación de las hembras. Detección y control del estro y la ovulación. Figueiredo, 5^a. ed. Inter-Médica, S.A.I.C.I., Buenos Aires, Argentina.
- Al-Gubory, K. A., Bolifraud, P., Germain, G., Nicole, A., Ceballos, I. 2004. Antioxidants enzymatic defense system in sheep corpus luteum throughout pregnancy. *Reproduction*, 128, 767-776.
- Al-Gubory, K. H., Bolifraud P., Garrel, C. 2008. Regulation of key antioxidant enzymatic systems in the sheep endometrium by ovarian steroids. *Endocrinology*, 149(9), 4428-4434.
- Al-Gubory, K. H., Fowler, P. A., & Garrel, C. 2010. The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 42(10), 1634-1650.
- Albano, E. 2006. Alcohol, oxidative stress and free radical damage. *Proceedings of the Nutrition Society*. 65, 278–290.
- Amesk, B. N., Shigenaga, M. K., Hagen, T. M., 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative disease of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 90, 7915-22.
- Andreyev, A.Y., Kushnareva, Y. E., Starkov, A. A., 2005. Mitochondrial metabolism of reactive oxygen species. *Biochemistry (Moscow)*. 70, 200-14.
- Arellano, G. M., Ramírez, C. A., Mancera, T. T., Pérez, M. G., Saucedo, C. G. 2011. Antioxidant activity of fermented and non-fermented coffee (*Coffea arabica*) pulp extracts. *Food Technology and Biotechnology*. 49(3), 374–378.

- Arendt, J. 1998. Melatonin and the pineal gland: influence on mammalian seasonal and circadian physiology. *Reviews of Reproduction*. 3: 13-22.
- Arroyo-Ledezma, J., La Torre-Barrera, D., y Ávila-Serrano, N. Y. 2013. Respuesta reproductiva de ovejas de pelo sincronizadas con progesterona o prostaglandinas. *Agrociencia*. 47(7), 661-670.
- Arroyo, L. J., U., Cortes-Gómez, J., De la Torre-Barrera y Hernández-López, J. 2012. Control artificial de la reproducción en ovinos de pelo. En: *Memorias Reunión Bianual Sobre Reproducción Animal*. Temascaltepec, Estado de México 4 y 5 de octubre. 37-58.
- Arroyo, L.J., Gallegos-Sánchez, J., Villa-Godoy, A., Berruecos, J.M., Perera, G., Valencia, J. 2007. Reproductive activity of *Pelibuey* and *Suffolk* ewes at 19° north latitude. *Animal Reproduction Science*. 102, 24-30.
- Arteaga, C. J, 2008, Situación actual de la ovinocultura en México. AMCO. II Foro de Rentabilidad Ovina.
- Asther, M., Estrada-Alvarado, I., Haon, M., Navarro, D., Asther, M., Lesage, L., Record, E., 2005. Purification of a chlorogenic acid hydrolase from *Aspergillus niger* catalysing the hydrolysis of chlorogenic acid. *Journal of Biotechnology*. 115, 47-56.
- Ayala, A., Muñoz, M. F., Argüelles, S., 2014. Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 360438. <http://doi.org/10.1155/2014/360438>.
- Balaro, M. F. A., Brandão, F. Z., Peneiras, A. B. V., Oba, E., da Fonseca, J. F., Almosny, N. R. P., and da Cruz Cardoso, E. 2015. Reproductive performance, metabolic and hormonal profiles of Santa Inês ewes in winter and summer under tropical conditions. *Tropical animal health and production*. 47 (3), 627-631.
- Balasubramani, M. S., Rukkumani, R., Viswanathan, P. y Menon, V. P. 2004. Ferulic acid alleviates lipid peroxidation in diabetic rats. *Phytotherapy Research*. 18 (4), 310-314.
- Barcelos, F.A., De Andrade, Von T, F. I., Ferreira, J.J., De Sousa S. R., C. F. Hermeto B., R. Amaral e P.C. Aguilar P. 1997. Aproveitamento da casca de café naalimentacao de novilhos confinados-resultados do primeiro ano. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 26 (6), 1208-1214.

- Barcelos, A. F., Andrade, I. F. D., & von Tiesenhausen, I. M. E. V. 1997. Aproveitamento da casca de café na alimentação de novilhos confinados—resultados do primeiro ano. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 26(6), 1208-1214.
- Barrueta, D. E., Bautista, E. O., Acevedo, L. 2000. Pulpa de café ensilada en dietas para cerdos en crecimiento y engorde. *Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias*. 41 (4), 85-90.
- Bautista, E. O., Pernia, J., Barrueta, D., Useche, M. 2005. Pulpa ecológica de café ensilada en la alimentación de alevines del híbrido Cachamay (*Colossoma macropomum* X *Piaractus brachypomus*). *Revista Científica Universidad de Zulia*. 15 (001), 33-40.
- Beckman, J. S., Koppenal, W. H. 1996. Nitric oxide superoxide, and peroxynitrite- the good, the bad. *American Journal of Physiology*. 40, 1424-37.
- Bendich, A. 1993. Physiological role of antioxidants in the immune system. *Journal of Dairy Science*. 76, 2789–2794.
- Benzie, I. F. Strain, J. J., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*. 239, 70–76.
- Bernabucci, U., Ronchi, B., Lacetera, N., Nardone, A. 2005. Influence of body condition score on relationships between metabolic status and oxidative stress in periparturient dairy cows. *Journal Dairy Science*. 88, 2017-2026.
- Bister, J. L., Noël, B., Perrad, B., Mandiki, S. N., Mbayahaga, J., Paquay, R. 1999. Control of ovarian follicles activity in the ewe. *Domestic Animal Endocrinology*. 17, 315-328.
- Blandón, N. S. 2009. Utilización de la pulpa de café ensilada como alimento de ovinos. *Revista de Ciencia y Tecnología del UNI-Norte. El Higo*. 1 (1), 9-1.
- Brazier, J. L., Ritter, J., Berland, M., Khenfer, D., Faucon, G. 1983. Pharmacokinetics of caffeine during and after pregnancy. *Developmental Pharmacology and Therapeutics*. 6 (5), 315-22.
- Bretzlaff, I. N., Romana, J. E. 2001. Advanced reproductive techniques in goats. Review. *Food Animal Practice*. 17, 421- 434.
- Butterfield, D. A., Pierluigi, My Sultana, R. 2006. Oxidative stress in Alzheimer’s disease brain: new insights from redox proteomics. *European Journal of Pharmacology*. 545, 39–50.
- Bravo, L., Abia, R. y Saura-Calixto, F. 1994. Polyphenols as dietary fiber associated compounds. Comparative study *on in vitro* and *in vitro* properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 42 (7), 1481-1487.

- Brovillar, R., Figueiredo, P., El Habiri, M., Dangles, O. 1997. Molecular interactions of phenolic compounds in relation to the color of fruit and vegetables. In: *Phytochemistry of fruit and vegetables*. Proceedings of the phytochemical society de Europe. 41, 29-49.
- Brzezinska-Swobodzinsk, D. E., Mille, J. K., Quigley, J. D., Moore, J. R., 1994. Antioxidant status of dairy cows supplemented prepartum with vitamin E and selenium. *Journal Dairy Science*. 77, 3087-3095.
- Cal-Pereyra, L., Benech, A, Da Silva, S, Martí, A, González Montaña, J. 2011. Metabolismo energético en ovejas gestantes esquiladas y no esquiladas sometidas a dos planos nutricionales. Efecto sobre las reservas energéticas de sus corderos. 43, 277-285.
- Campagne, D. 2006. Should fertilization treatment start with reducing stress. *Human Reproduction*. 21 (7), 1651-1658.
- Caraty, A., Delaleu, B., Chesneau, D. and Fabre-Nys, C. 2002. Sequential role of E2 and GnRH for the expression of estrous behavior in ewes. *Endocrinology*. 143, 139-145.
- Cao, G., Russell, R. M., Lischner, N. and Prior, R. L. 1998. Serum antioxidant capacity is increased by consumption of strawberries, spinach, red wine or vitamin C in elderly women. *Journal of Nutrition*. 128, 2383-2390.
- Castañeda, A. 2010. Importancia de los metabolitos como: glucosa, proteínas totales, triglicéridos, urea y creatinina en dos tratamientos T1: ovejas gestantes y T2: paridas. *Acceso*, 22, 09-11.
- Castro González, N. P. 2010. Comportamiento productivo y reproductivo de ovinos de lana locales en la región de Tlatlauquitepec, Puebla., (Tesis de Maestría), Colegio de Postgraduados Campus Puebla, Puebla. México.
- Cedillo Galindo, N. 2008. Sincronización del estro con diferentes dosis de progestágeno FGA en ovejas. (Tesis de Doctorado). Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, Texcoco, Edo., de México, México.
- Celi, P., Merlo, M., Barbato, O., Gabai, G. 2012. Relationship between oxidative stress and the success of artificial insemination in dairy cows in a pasture-based system. *The Veterinary Journal*. 193, 498–502.
- Ceballos, A., Wittwer, F. G., Contreras, P. A., Quiroz, E., Böhmwald, H. L. 1999. Blood activity of glutathione peroxidase and its correlation with blood selenium concentration in grazing dairy cattle. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 34 (12), 2331-2338.

- Cerna, C., Porras, A., Valencia, M.J., Perera, G., Zarco, L. 2000. Effect of an inverse subtropical (19°13' N) photoperiod on ovarian activity, melatonin and prolactin secretion in Pelibuey ewes. *Animal Reproduction Science*. 60(61), 511-525.
- Chang, R., College, W. 2002. Química. Séptima ed. S.A M-HIE, editor. Colombia.
- Cheesman, K. H., Slater T. F. 1998. Free Radicals in Medicine. *British Medical Bulletin*. 49, 118-21.
- Cheesman, K. H., Slater, T. F. 1993. An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin*. 49, 481-93.
- Chew, Y. L., Chan, E. W. L., Tan, P. L., Lim, Y. Y., Stanslas, J., Goh, J. K. 2011. Assessment of phytochemical content, polyphenolic composition, antioxidant and antibacterial activities of leguminosae medicinal plants in Peninsular Malaysia. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 11(1), 1-10.
- Cipriano, R. F., García, R., Freitas, A. W., Lima de Souza, A., Valadares, F. S. C., Gomes, P. O., Sampaio, R. J. P., Gonçalves, T. R., Cipriano, R. G. 2006. Consumo e digestibilidade de dietas formuladas com diferentes níveis de casca de café para vacas em lactação¹. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 35 (5), 2154-2162.
- Clapés, H. S. 2000. Diabetes mellitus, estrés oxidativo y embarazo. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*. 19(3), 191-195.
- Contreras, P. A., Möller, I., Wittwer, F., Tadich, N. 1990. Concentraciones sanguíneas de glucosa, colesterol, cuerpos cetónicos y actividad de aspartato aminotransferasa en ovejas con gestación única y gemelar en pastoreo rotacional intensivo. *Archivos de Medicina Veterinaria*. 22(1), 65-69
- Dakin, H. D. 1906. The oxidation of aminoacids with the production of substances of biological importance. *Journal of Biological Chemistry*. 1, 171-176.
- Davidson, S. M. y Duchon, M. R. 2007. Endothelial mitochondria: contributing to vascular function and disease. *Circulation Research*. 100, 1128–1141.
- De Mira, N. V. M., Massaretto, I. L., Pascual C. D. S. C. I., Lanfer Marquez, U. M. 2009. Comparative study of phenolic compounds in different Brazilian rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. *Journal of Food Composition and Analysis*. 22 (5), 405-409.
- De Molina, M. D. C. R. 2003. El estrés oxidativo y el destino celular. *Química Viva*. 2 (1).

- Decker, E. A. 1995. The role of phenolics, conjugated linoleic acid, carnosine, and pyrroloquinoline quinone as nonessential dietary antioxidants. *Nutrition Reviews*. 53 (3), 49-58.
- Decker, E. 1997. Phenolics: Prooxidants or antioxidants. *Nutrition Reviews*. 55 (11), 396-398.
- Dias, F. E. F., Lopes, E. S., Villarroel, A. B. S. 2001. Sincronização do estro, indução da ovulação e fertilidade de ovelhas deslanadas após tratamento hormonal com gonadotrofina coriônica equina. *Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science*. 53 (5), 618-623.
- Diskin, M. G., and Morris, D. G. 2008. Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. *Reproduction in Domestic Animals*. 43 (2), 260-267.
- Driancourt, M. A., Gibson, W. R., Cahill, L. P. 1985 Follicular dynamics through the oestrus cycle in sheep. A review. *Reproduction Nutrition Development*. 25, 1-15.
- Dykes, L. y Rooney, L.W. 2007. Phenolic compounds in cereal grains and their health benefits. *Cereal Foods World*. 52, 105-111.
- El-Sayed, H. M., El-Nor, S. A. H. A., Kholif A. M. and Tawila, M. A. 1999. *In vivo* evaluations of coffee bean shell has a component in ruminant rations. *Egyptian Journal of Nutrition and Feeds*. 2 (1), 1-7.
- El-Shahat, K. H., Kandi, M. I. 2012. Antioxidant capacity of follicular fluid in relation to follicular size and stage of estrous cycle in buffaloes. *Theriogenology*. 77, 1513–1518.
- Erisir, M., Benzer, F., Kandemir, F. M. 2009. Changes in the rate of lipid peroxidation in plasma and selected blood antioxidants before and during pregnancy in ewes. *Acta Veterinaria Brno*. 78, 237–242.
- FAOSTAT. 2014. Producción, Consumo, Comercio. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación FAO. <http://faostat.fao.org>.
- Farah, A., Marino, D. C. 2006. Phenolic compounds in coffee. *Brazilian Journal Plant Physiology*. 8(1), 23-36.
- Ferrari, C. K. B. 2004. Functional foods, herbs and nutraceuticals: toward biochemical mechanisms of healthy aging. *Biogerontology*. 5, 275-289.
- Ferreira, B. A., Aguilar, A. P., Pérez, O. J., Dos Santos, V. B., Maciel, C. R. 2001. Factores antinutricionais da casca e da polpa desidratada de café (*Coffea arabica L.*). Armazenadas em diferentes períodos. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 30 (4), 1325-1331.

- Ferreira, I., Olalquiaga, J., y Teixeira, J. 2003. Componentes de carcaça e composição de alguns cortes de cordeiros Texel x Bergamácia, Texel x Santa Inês e Santa Inês puros, terminados em confinamento, com casca de café como parte da dieta. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 32 (6), 178-199.
- Ferreira, I., Olalquiaga, J., Teixeira, J. y Pacheco, C. 2000. Desempenho de cordeiros Texel x Bergamácia, Texel x Santa Inês e Santa Inês Puros, terminados em confinamento, alimentados com casca de café como parte da dieta. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 29 (2), 89-100.
- Ferreira, B. A., De Andrade, I. F., Tiesenhausen, I. Von., Ferreira, J. J., De Souza, S. R., Hermeto, B. C. F., Amaral, R., Aguiar, P. P. C. 1997. Aproveitamiento da casca de café na alimentação de novilhos confinados resultados do primeiro ano. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 26, 1208-1214.
- Ferrer, J., Páez, G., Chirino, M. y Mármol, Z. 1995. Ensilaje de la pulpa de café. *Revista de la Facultad de Agronomía – LUZ*. 12, 417-428.
- Figuerola, H. J. G., Mendoza, A. J. 2010. *Cuantificación de minerales K, Ca, Mg y P en pulpa y pergamino de café (Coffea arabica L. var. Typica)*. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 1 (2), 221-230.
- Fleisch, A., Werne, S., Heckendorn, F., Hartnack, S., Piechotta, M., Bollwein, H., Thun, R., Jannet, F. 2006. Comparison of 6-day progestagen treatment with Chronogest® CR and Eazi-breed™ CIDR® G intravaginal inserts for estrus synchronization in cyclic ewes. *Small Ruminant Research*. 107, 141– 146.
- Flores, J. O., Roque, V. C., López O. R., Benítez S. S., Oropeza A. M., y Hernández C. J. 2013. Porcentaje de concepción en vacas lecheras tratadas con progesterona cinco días después de la inseminación. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*. 4 (4), 507-514.
- Fraire-Cordero, S., Pró-Martínez, A., Ramírez-Valverde, G., Sánchez del Real, C., & Gallegos-Sánchez, J. 2013. Selenio y vitamina E en la fertilidad de ovejas Pelibuey sincronizadas con progesterona. *Universidad y Ciencia*. 29 (1), 33-44.
- Funes, C. M. R., Benegas, C. L., Maradiaga, G. H., Osorio, R. M. E., Henríquez, F. N. D., Eloy, N., Mejía, N. 2012. Producción de bioetanol a partir del mucilago de café (*Coffea arabica* L.). CURC. UNAH. Comayagua. Honduras. *Revista Ciencia y Tecnología*. 10, 150-164.

- Fujioka, K. y Shibamoto, T. 2006. Quantitation of volatiles and nonvolatile acids in an extract from coffee beverages: correlation with antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54, 6054–6058.
- Furuhashi, N., Sato, S., Suzuki, M., Hiruta, M., Tanaka, M., Takahashi, T. 1985. Effects of caffeine ingestion during pregnancy. *Gynecologic and Obstetric Investigation*. 19 (4), 187-91.
- Gallegos-Sánchez, J., Arellano Lezama, T., Fraire-Cordero, S., Cadena-Villegas, S., Hernández Marín, J. A. 2015. Manejo reproductivo del rebaño. *Memorias del 7 Congreso Internacional del Borrego*. Pachuca, Hidalgo. México. 5 y 6. 1-29.
- García, E. 1988. Distribución de los grupos climáticos de Köppen en México. *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen*.
- Garrel, C., Fowler, P. A., Al-Gubory, K. H. 2010. Developmental changes in antioxidant enzymatic defences against oxidative stress in sheep placentomas. *Journal of Endocrinology*. 205, 107–116.
- Garrel, C., Ceballos, I., Germain, G., Al-Jubory, K. 2007. Oxidative stress–inducible antioxidant adaptive response during prostaglandin F2 alpha–induced luteal cell death *in vivo*. *Free Radical Research*. 41, 251–259.
- Garzón, G. J. P., Cuervo, A. J. L. 2008. Producción de *Pleurotus ostreatus* sobre residuos sólidos lignocelulósicos de diferente procedencia. *NOVA. Ciencias Biomédicas*. 6 (10), 101-236.
- Gate, L., Paul, J., Ba, G. N., Tew, K. D., Tapiero, H. 1999. Oxidative stress induced in pathologies: the role of antioxidants. *Biomed. Pharmacother*. 53, 169-180.
- Gerschman, R., Gilbert, D., Nye, S., Dwyer, P., Fenn, W. 1954. Oxygen poisoning and x-irradiation: a mechanism in common. *Science*. 119 (3097), 623-626.
- González-Bulnes, A., Díaz, D. C., García-García, R. M., Urrutia, B., Carrizosa, J. A. and López-Sebastián. 2005. Origin and fate of preovulatory follicles after induced luteolysis at different stages of the luteal phase of the oestrous cycle in goats. *Animal Reproduction Science*. 86, 237-245.
- González-Castejón, M., and Rodríguez-Casado, A. 2011. Dietary phytochemicals and their potential effects on obesity. *Pharmacological Research*. 64 (5), 438-455.
- González-Mangado, N., & Prat, J. M. (2001). Oxidación celular y fármacos mucoactivos antioxidantes. *Archivos de Bronconeumología*. 37(10), 407-409.

- González, B., Veiga, L. A., García, R. M. P., García, G., Ariznavarreta, M. A. C., Sanchez, J. A. F., Tresguerres, M. J., Cocero, J. M., Flores, B. 2005. Effects of progestagens and prostaglandin analogues on ovarian function and embryo viability in sheep. *Theriogenology*. 63, 2523-2534.
- González-Reyna, A., Valencia, M. J., Foote, W. C., Murphy, B. D. 1991. Hair sheep in México: reproduction in the Pelibuey sheep. *Animal Breeding Abstracts*. 59, 509-524.
- Gordon, I. 1997. Reproduction in sheep and goats. *Controlled reproduction in farm animals series*, 2. 480.
- Gür, S., Türk, G., Demirci, E., Yüce, A., Sönmez, M., Ozer, S., Aksu, E. H. 2010. Effect of pregnancy and foetal number on diameter of corpus luteum, maternal progesterone concentration and oxidant/antioxidant balance in ewes. *Reproduction in Domestic Animals*. 46, 289–295.
- Gülcin, I. 2006. Antioxidant activity of caffeic acid (3, 4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology*. 217, 213-220.
- Gundogan, M., Baki D., Yeni D. 2003. Reproductive Seasonality in Sheep. *Acta Agricola Scandinava. Section A, Animal Science* 53, 175-/179.
- Hafez, E. S. 1989. *Reproducción e inseminación artificial en animales*. 5^a ed. Interamericana McGraw-Hill. México. 177-187.
- Han, X., Shen, T., y Lou, H. 2007. Dietary polyphenols and their biological significance. *International Journal of Molecular Sciences*. 8 (9), 950-988.
- Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C. 1989. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 2ed. Oxford UK: Clarendon Press.
- Halliwell, B., Whiteman, M., 2004. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean. *British Journal of Pharmacology*. 142, 231-55.
- Han, X., Shen, T., and Lou, H. 2007. Dietary polyphenols and their biological significance. *International Journal of Molecular Sciences*. 8(9), 950-988.
- Hanke, C. J., Drewett, J. G., Myers, C. R., Campbell, W. B. 1998. Nitric oxide inhibits aldosterone synthesis by a guanylyl cyclaseindependent effect. *Endocrinolog*. 139, 4053-4060.

- Hashemi, M., Safadarian, M., Kafi, M. 2006. Estrous response to synchronization of estrus using different progesterone treatments outside the natural breeding season in ewes. *Small Ruminant Research*. 65, 279–283.
- Hausladen, A., Stambler, I. S., 1999. Nitrosative Stress. *Methods Enzymology*. 300, 389-395.
- Hwang, E. S. y Bowen, P. E. 2007. DNA damage, a biomarker of carcinogenesis: Its measurement and modulation by diet and environment. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 47. 27–50.
- Häkkinen, S. 2000. Flavonols and phenolic acids in berries and berry products. Tesis de Doctorado. Kuopio University, Dissertation of the Faculty of Medicine. 92.
- INEGI, I. 2016. Mexico en cifras. [www3. Inegi.org.mx](http://www3.inegi.org.mx). Retrieved 13 de Septiembre 2016, from <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/Default.aspx?i&e=9>.
- Inskeep, E. 2004 Preovulatory, postovulatory, and postmaternal recognition effects of concentrations of progesterone on embryonic survival in the cow. *Journal of Animal Science*. 82, E24–39.
- Jakoby, W. B., Ziegler, D. M. 1990. The enzymes of detoxification. *Journal of Biological Chemistry*. 265, 20715-8.
- Jarquín, R. 1987. Alimentación de animales con pulpa de café. III Simposio Internacional sobre la Utilización Integral de los Subproductos del Café. Guatemala, 45-53.
- Jaruga, P., Dizdaroglu, M. 1996. Repair of products of oxidative ADN base damage in human cells. 24, 1389-94.
- Jeong, E. M., Liu, M., Sturdy, M., Gao, G., Varghese, S.T., Sovari, A. A., Dudley, S. C. 2012. Metabolic stress, reactive oxygen species, and arrhythmia. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 52 (2), 454-63.
- Jerlick, A., Pitt, A. R., Schaur, R. J., Spickett, C. M., 2000. Pathway of phospholipid oxidation by HOC1 in human LDL, detected by LC-MS. *Free Radical Biology and Medicine*. 28 (5), 673-82.
- Jones, P. M., Persaud, H. 1998. Protein kinases, protein phosphorylation and the regulation of insulin secretion from pancreatic b-cells. *Endocrine Reviews*. 19, 429-61.
- Kachadourian, R., Johnson, C. A., Min, E., Spasojevic, I., Day B. J. 2004. Flavin-dependent antioxidant properties of a new series of *meso-N,N'*-dialkyl-imidazolium substituted manganese(III) porphyrins. *Biochemical Pharmacology*. 67:77–85.

- Kaneko, Jiro J. 1980. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Third edition.
- Kankofer, M., Albera, E., Feldman, M., Gundling, N., Hoedemaker, M. 2010. Comparison of antioxidative/oxidative profiles in blood plasma of cows with and without retained fetal placental membranes. *Theriogenology*. 74, 1385–1395.
- Kankofer, M., 2002. Placenta release/retention in cows and its relation to peroxidative damage of macromolecules. *Reproduction in Domestic Animals*. 37, 27–30.
- Karsch, F. J., Dahl, G. E., Evans, N. P., Manning, J. M., Mayfield, K. P., Moenter, S. M. and Foster, D. L. 1993. Seasonal changes in gonadotropin-releasing hormone secretion in the ewe: alteration in response to the negative feedback action of estradiol. *Reproductive Biology*. 49, 1377 -1383.
- Kim, J. H., Kang, N. J., Lee, B. K., Lee, K. W., Lee, H. J. 2008. Gallic acid, a metabolite of the antioxidant propyl gallate, inhibits gap junctional intercellular communication via phosphorylation of connexin 43 and extracellular-signal-regulated kinase1/2 in rat liver epithelial cells. *Mutation Research*. 638, 175–183.
- Kim, K., Tsao, R., Yang, R. y Cui, S. 2006. Phenolic and profiles and antioxidant activities of wheat extracts and the effect of hydrolysis conditions. *Food Chemistry*. 95 (3), 466-473.
- Konigsberg, M. 2008. Radicales libres y estrés oxidativo, Aplicaciones Médicas. Ed. Manual Moderno. 368.
- Kumar, J. K. 2004. Proteomic analysis of thioredoxin-targeted proteins in *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 101 (11), 3759-3764.
- Lamb, G. C., Smith, M. F., Perry, G. A., Atkins, J. A., Risley, M. E., Busch, D. C., and Patterson, D. J. 2010. Reproductive endocrinology and hormonal control of the estrous cycle. *Bovine Practitioner*. 44(1), 18-26.
- Lea, R.G. y Sandra, O. 2007. Immunoendocrine aspects of endometrial function and implantation. *Reproduction*. 134 (3), 389-404.
- Liang, H., Ran, Q., Jang, Y. C., Holstein, D., Lechleiter, J., McDonald-Marsh, T., and Richardson, A. 2009. Glutathione peroxidase 4 differentially regulates the release of apoptogenic proteins from mitochondria. *Free Radical Biology and Medicine*. 47 (3), 312-320.
- Li, H. B., Wong, C. C., Cheng, K. W., Chen, F. 2008. Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *LWT- Food Science and Technology*. 41, 385-390.

- Lima de Souza, A., García, R., Valadares, F. S. C., Cipriano, R. F., De Souza, C. J. M., Da Silva C. L., Gobbi, K. F. 2005. Casca de café em dietas de vacas em lactação: consumo, digestibilidade e produção de leite. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 34, 2496-2504.
- Lineweaver, C. H., Fenner, Y. y Gibson, B. K. 2004. The galactic habitable zone and the age distribution of complex life in the milky way. *Science*. 303, 59-62.
- Liu, H. W., Zhou, D. W., Lit K. 2013. Effects of chestnut on performance and antioxidative status of transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 96, 5901-5907.
- Londoño, J., Naranjo, M., y Quintero, M. M. 2013. Estudio de los cambios de la actividad antioxidante en bebidas de café durante su periodo de vida útil usando métodos in-vitro y ex-vivo. *Vitae*. 20 (2).
- Malpaux, B., Tricoire, H., Mailliet, F., Daveau, A., Migaud, M., Skinner, D.C., Pelletier, J., Chemineau, P. 2002. Melatonin and seasonal reproduction: understanding the neuroendocrine mechanisms using the sheep as a model. *Reproduction Supplement*. 59, 167-179.
- Makkar, H. P. S. 2003. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research*. 49, 241-256.
- Martínez, G. S., Aguirre, O. J., Gómez, D. A., Ruíz, F. M., Lemus, F. C., Macías, C. H., Moreno, F. L., Salgado, M. S., Ramírez, L. M. 2010. Tecnologías para mejorar la producción ovina en México. *Fuente*. 2 (5), 41-51.
- Martins, S., Mussatto, S. I., Martinez-Avila, G., Montañez-Saenz, J., Aguilar, C. N., Teixeira, J. A. 2011. Bioactive phenolic compounds: Production and extraction by solid-state fermentation. A review. *Biotechnology Advances*. 29 (3), 365-373.
- Materska, M. and Peruka, I. 2005. Antioxidant activity of the main phenolic compounds isolated from hot pepper fruit (*Capsicum annuum L*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53, 1750-1756.
- Manach, C., Morad, C., Crespy, V., Demigne, C. 1998. Quercetin is recovered in human plasma as conjugated derivatives which retain antioxidants properties. *FEBS Journal*. 426 (3), 331-336.
- McMillen, J.C., Houghton, D.C., Young, I.R. 1995. Melatonin and the development of circadian and seasonal rhythmicity. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*. 49, 137-146.

- Mejía, O. and Palma, M. 2010. Características reproductivas de los ovinos. In: Curso teórico-práctico técnicas de reproducción asistida en ovinos, 2010, Guamo (Tolima). Memorias. Asociación de Ovinocultura. 66-72.
- Menchaca, A. y Rubianes, E. 2002. Relation between progesterone concentrations during the early luteal phase and follicular dynamics in goats. *Theriogenology*. 57, 1411-1419.
- Miller, D. W., Blache, D., Boukhliq, R., Curlew, J. D., & Martin, G. B. 1998. Central metabolic messengers and the effects of nutrition on gonadotrophin secretion in sheep. *Journal of Reproduction and Fertility*. 112 (2), 347-356.
- Mora-Rochín, S. 2011. Perfiles y niveles de fotoquímicos en maíces (*Zea mays* L.) pigmentados. Efectos del procesamiento sobre su capacidad antioxidante y propiedades nutraceuticas. (Tesis de Doctorado). Universidad Autónoma de Sinaloa. 159.
- Molina, S. F. P. y Alapont, V. M. 2007. Restringir la ingesta de cafeína en embarazadas a partir de las 20 semanas de embarazo no tiene impacto en el peso de nacimiento del neonato ni en la duración de la gestación. *Evidencias en Pediatría*. 3(2), 45.
- Molina, M. P., Martínez, G. A., Cordero, M. J. L., Ortega, C. M. E., Sánchez, T-E. T., Hizarza, E. A., Peralta, O. J., García, F. E. O.; Cárdenas, L. M. 2005. Manipulación de la presencia del cuerpo lúteo en la sincronización de estro en ovejas Dorset. *Agrociencia*, Enero-Febrero, 11-18.
- Montero, M. 1996. Los radicales libres y las defensas antioxidantes. Revisión. *Anales de la Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos*. 57 (4).
- Murthy, P. S., Naidu, M. M. 2012. Recovery of Phenolic Antioxidants and functional compounds from coffee industry By-Products. *Food Bioprocess Technology*. 5, 897-903.
- MacFarlane, P. M., Wilkerson, J. E. R., Lovett-Barr, M. R., Mitchell, G.S. 2008. Reactive oxygen species and respiratory plasticity following intermittent hypoxia. *Respiratory Physiology Neurobiology*. 164 (1-2), 263-271.
- McKenna, D. J., Jones, K., Hughes, K. 2001. Efficacy, safety, and use of ginkgo biloba in clinical and preclinical applications. *Alternative Therapies in Health and Medicine*. 7, 70-90.
- Nielsen, F., Mikkelsen, B., Nielsen, J., Andersen, R., Grandjean, P. 1997. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: Reference interval and effects of life-style factors. *Clinical Chemistry*. 43, 1209-1214.

- Noriega, S. A., Silva, A. R., García, S. M. 2009. Composición química de la pulpa de café a diferentes tiempos de ensilaje para su uso potencial en la alimentación animal. *Zootecnia Tropical*. 27 (2), 135-141.
- Noro, M., Vargas, V., Pulido, R. G., y Wittwer, F. 2006. Efecto del tipo de concentrado sobre indicadores sanguíneos del metabolismo de energía y de proteínas en vacas lecheras en pastoreo primaveral. *Archivos de Medicina Veterinaria*. 38 (3), 227-232.
- NRC, National Research Council. 1985. *Nutrient Requirements of Domestic Animals. Nutrient Requirements of Sheep. Sixth Revised Edition*, National Academy of Sciences, Washington, D.C. USA.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analital Biochemistry*, 95, 351-358.
- Okamoto, K., Toyokuni, S., Kim, W. J., Ogawa, O., Kakehi, Y. 1996. Overexpression of human mut T homologue gene messenger RNA in renal cell carcinoma: Evidence of persistent oxidative stress in cancer. *International Journal of Cancer*. 65, 437-41.
- Olcina, C. G. J., Muñoz, M. D., Timón, A. R., Caballero, L. M. J., Maynar, J. I., Maynar, M. 2002. Efectos de la ingestión de cafeína sobre el rendimiento, la peroxidación lipídica y las vitaminas A, E y C en sujetos sometidos a una prueba de esfuerzo máxima. *Archivos de Medicina del Deporte*. 371-375.
- Olthof, M. R., Hollman, P. C. H., Katan, M. B. 2001. Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. *The Journal of Nutrition*. 131 (1), 66-71.
- Ortega, C. C., Guzmán, G. A. M., Hicks, J. J. 1999. Oxidation of gonadotropin (PMSG) y oxygen free radicals alters its structure and hormonal activity. *Molecular Reproduction and Development*. 52, 264-268.
- Osbourn, A. E. y Lanzotti, V. 2009. *Plant-derived natural products: Synthesis Function and Application*. Editorial Springer. 598.
- Ozyurtlar, N., Kucukaslan, I., Cetin Y. 2010. Characterization of oestrus induction response, oestrus duration, fecundity and fertility in awassi ewe durinh the non-breeding season utilizing both CIDR and intravaginal sponge treatmens. *Reproduction in Domestic Animals*. 454, 464-467.

- Paganga, G., Miller, N., Rice-Evans, C. A. 1999. The polyphenolic content of fruit, vegetables, and their antioxidant activities. What does a serving constitute? *Free Radical Research*. 30 153-162.
- Paliyath, G., Murr. D. P., Handa, A. K. y Lurie, S. 2008. Postharvest biology and technology of fruits, vegetables, and flowers. 240-245.
- Patel, R. P., Cornwell, T., Darley-Usmar, V. M. 1999. The biochemistry of nitric oxide and peroxynitrite: implications. Understanding the process of aging: the roles of mitochondria: free radicals and antioxidants. 39.
- Pandey, A., Soccol, C., Nigam, P., Brand, D., Mohan, R. y Roussos, S. 2000. Biotechnological potential of coffee pulp and coffee husk for bioprocesses. *Biochemical Engineering Journal*. 6, 153-162.
- Pérez-Hernández, L. M., Chávez-Quiroz, K., Medina-Juárez, L. Á., y Meza, N. G. 2013. Compuestos fenólicos, melanoidinas y actividad antioxidante de café verde y procesado de las especies *Coffea arabica* y *Coffea canephora*. *Biotecnia*. 15(1), 51-56.
- Pietta, P. 2000. Flavonoides as antioxidants. *Journal of Natural Products*. 63 (7), 1035-1042.
- Poornahavandi, H. R. and Zamiri, M. J. 2008. Effects of ephedrine and its combination with caffeine on body composition and blood attributes of fat-tailed Mehraban lambs. *Iranian Journal of Veterinary Research, Shiraz University*. 9 (1), 51-58.
- Quintela, L. A., Díaz, C., Becerra, J. J., Alonso, G., Gracia, S., Herradón, P. G. 2008. Papel del β -caroteno y la vitamina A en la reproducción en el ganado vacuno. *ITEA México*. 104 (3), 399-410
- Quirke, J. F., Hanrahan, J. P. and Gosling, J. P. 1979. Plasma progesterone levels throughout the oestrous cycle and release of LH at oestrus in sheep with different ovulation rates. *Journal of Reproduction and Fertility*. 55 (1), 37-44.
- Radak, Z., Zhao, Z., Goto, S., Koltai, E. 2011. Age-associated neurodegeneration and oxidative damage to lipids, proteins and DNA. *Molecular Aspects of Medicine*. 32 (4-6), 305-15.
- Ramírez, C. M. A., Mannet, N., Kolli, V. S., Roussos, S., Guyot, S., Augur, C. 2004. Characterization and estimation of proanthocyanidins and other phenolics in coffee pulp (*Coffea arabica*) by thiolysis-high-performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52, 1344-1349.

- Ramírez-Martínez, J. R. 1988. Phenolic compounds in coffee pulp: quantitative determination by HPLC. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 43, 135-144.
- Ramírez, J. 1998. Coffee pulp is a by product, not a waste. *Tea Coffee Trade Journal*. 170, 116-123.
- Ratnam, D. V., Ankola, D. D., Bhardwaj, V., Sahana, D. K., Kumar, M. R. 2006. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *Journal of Controlled Release*. 113 (3), 189-207.
- Rawlings, N. C., Kennedy, S. W., Chang, C. H., Hill, J. R., Henricks, D. M. 1977. Onset of seasonal anestrus in the ewe. *Journal of Animal Science*. 44, 791-797.
- Razz, R., y Clavero, T. 2004. Niveles de urea, fósforo, glucosa e insulina de vacas en ordeño suplementadas con concentrado en un sistema de *Panicum maximum* y *Leucaena leucocephala*. *Revista Científica*. 14 (4).
- Reitter, R. J. 1995. Oxidative processes and antioxidative mechanisms. *FASEB Journal*. 9, 526-33.
- Restrepo, S. D. C., Narváez, C. C. E., Restrepo, S. L. P. 2009. Extracción de compuestos con actividad antioxidante de frutos de guayaba cultivada en Vélez-Santander, Colombia. *Química Nova*. 32 (6), 1517-1522.
- Ribeiro, L. A. O., Mattos, R. C., González, F. H. D., Wald, V. B., Silva, M. A. D., y La Rosa, V. L. 2004. Perfil metabólico de ovelhas Border Leicester x Texel durante a gestação e a lactação. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*. 99 (551), 155-159.
- Rodríguez, P. E., Ferrero, M. M. R., Mejías, C., García, B. M. R., Fernández, P., del ECEMC, G. P., Martínez, F. M. L. 2010. Consumo de cafeína en el embarazo en nuestro medio y riesgo para el desarrollo embrionario/fetal. *Boletín del ECEMC*, 102.
- Robbins, R. J. 2003. Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51 (10), 2866-2887.
- Ruiz, G. I. 2013. Estudio molecular del reconocimiento maternal, adhesión y neovascularización en la peri-implantación ovina en dos tratamientos de sincronización del estro (Doctoral Dissertation, Universidad Complutense de Madrid).
- Russel, A. J. F., Doney, J. M., Gunn, R. G. 1969. Subjective assessment of body fat in live sheep. *Journal of Agricultural Science*. 72, 51-54.

- Salmones, D., Mata, G. and Waliszewski, K. N. 2005. Comparative culturing of pleurotus spp. On coffee pulp and wheat straw: Biomass production and substrate biodegradation. *Bioresource Technology*. 96, 537-544.
- Safdarian, M., Kafi, M., Hashemi, M. 2006. Reproductive performance of Karakul ewes following different oestrous synchronisation treatments outside the natural breeding season. *South African Journal of Animal Science*. 36, 229-234.
- SAGARPA. 2011. Sistema de Información Agropecuaria de Consulta (SIACON). México.
- SIAP-SAGARPA. 2012. Informe Agropecuario, México.
- SIAP, SAGARPA. 2014. Resumen de la producción nacional y precios de carne y leche. Disponible <http://www.siap.gob.mx>
- SAGARPA 2012b. México. Disponible en Informe Agropecuario, México. <http://www.sagarpa.gob.mx/saladeprensa/2012/Paginas/2013B659.aspx>.
- Salinas, R. T., Sánchez, T-E. M. T., Díaz, C. A., Cordero, M. J. L., Cárdenas, L. M., Nava-Cuellar, C. Nieto, A. R. 2016. Oxidative status and fertility of ewes supplemented coffee pulp during estrous synchronization and early pregnancy. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 29 (4) 255-263.
- Sanz, A., Barja, G. 2006. Estimation of the Rate of Production of Oxygen Radicals by mitochondria. In: Conn P. M., editor. *Handbook of Models for Human Aging*: Oxford: Elsevier Academic Press.
- SAS (Statistical Analysis System) Institute 2002 SAS/STAT. Computer Software. Release 9.00. SAS Institute Inc. Cary.
- Schmidt, A. J., Krieg, J. C., Vedder, H. 2005. Effects of steroid hormones on catalase activity in neuronal and glial cell systems. *European Neuropsychopharmacology*. 15 (2), 177-83.
- See-Ling, L., K. N. S. Sirajudeen, J. M. H. Jan. 2013. Increase in maternal adiposity and poor lipid profile is associated with oxidative stress markers during pregnancy. *Preventive Medicine*. 57, S41-S44.
- Seekallu, S. V., B. M. Toosi, A. Zeigler, N. C. Rawlings. 2010. Effects of estradiol and progesterone on circulating LH and FSH secretion, and ovarian antral follicle growth in anestrous ewes. *Small Ruminant Research*. 91, 178-185.
- Serafini, M., Maiani, G. Ferro-Luzzi, A. 1998. Alcohol-free red wine enhances plasma antioxidant capacity in human. *Journal of Nutrition*. 128 (6), 1003-1007.

- Shkolnik, K., Tadmor, A., Ben-dor, S., Nevo, N., Galiani, D., Dekel, N. 2011. Reactive oxygen species are indispensable in ovulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 108 (4), 1462-1467.
- Shahidi, F., Naczk, M. 2004. *Phenolics in food and nutraceuticals*. CRC. Press Boca Raton, FL, London, New York, Washington, D.C.: CRC Press.
- Shahidi, F., Naczk M. 1995. *Food phenolics: sources, chemistry, effects, applications*. Technomic Publishing Company Incorporated Lancaster Pennsylvania.
- Shanlin, F. U., Stocker, R., and Davies, M. J. 1997. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochemical Journal*. 324 (1), 1-18.
- Sharkey, S., Callan, R. J., Mortimer, R., Kimberling, C. 2001. Reproductive techniques in sheep. *Review Food Animal Practice*. 17, 435-455.
- Shi, X., Jiang, H., Mao, Y., Ye, J., Saffiotti, U. 1996. Vanadium (IV)-mediated free radical generation and related 2'-deoxyguanosine hydroxylation and ADN damage. *Oncology*. 106, 27-38.
- Shi, J., Yu, J., Pohorly, J. E., Kakuda, Y. 2003. Polyphenolics in grape seeds-biochemistry and functionality. *Journal of Medicinal Food*. 6 (4), 291-299.
- Silvester, J. A., Timmins, G. S., Davies, M. J. 1998. Photodynamically generated bovine serum albumin radicals: Evidence for damage transfer and oxidation at cysteine and tryptophan residues. *Free Radical Biology and Medicine*. 24 (5), 754-766.
- Skinner, D. C., Caraty, A. and Allingham, R. 2001. Unmasking the progesterone receptor in the preoptic area and hypothalamus of the ewe: no colocalization with gonadotropin- releasing neurons. *Endocrinology*. 142, 573-579.
- Soares, M., Christen, P., Pandey, A., Raimbault, M. and Soccol, C. R. 2000. A novel approach for the production of natural aroma compounds using agro-industrial residue. *Engineering*. 23 (6), 695-699.
- Soares, O. A., Souza, C. J. M., Valadares, F. S. C., Assis, A. J., Monteiro, A. T. R., Navajas, R. L., Dos Santos, P. D., Soares, O. G. 2007a. Substituição do milho pela casca de café ou de soja em dietas para vacas leiteiras: comportamento ingestivo, concentração de nitrogênio uréico no plasma e no leite, balanço de compostos nitrogenados e produção de proteína microbiana¹. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 36, 205-215.

- Solís-Fuentes, J. A., Morales-Téllez, M., Ayala-Tirado, R. C., Durán-de Bazúa, M. 2012. Obtención de carbón activado a partir de residuos agroindustriales y su evaluación en la remoción de color del jugo de caña. *Tecnología, Ciencia y Educación*. 27 (1), 36-48.
- Sönmez, M., Bozkurt, T., Türk, G., Gür, S., Kizil, M., Yüce, A. 2009. The effect of vitamin E during preovulatory period on reproductive performance of goats following estrous synchronization using intravaginal sponges. *Animal Reproduction Science*. 114, 183–192.
- Soong, Y. Y., Barlow, P. J. 2006. Quantification of gallic acid and ellagic acid from long an (*Dimocarpus longan Lour.*) seed and mango (*Mangifera indica L.*)kernel and their effects on antioxidant activity. *Food Chemistry*. 97, 524–530.
- Souza, A. L. D., Garcia, R., Bernardino, F. S., Rocha, F. C., Valadares F. S. D. C., Pereira, O. G., and Pires, A. J. V. 2004. Casca de café em dietas de carneiros: consumo e digestibilidade. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 33 (6), 2173-2176.
- Souza, A. L. D., Garcia, R., Valadares F., Cipriano, F. R., de Souza, J. M., Da Silva, C., Gobbi, K. F. 2005. Casca de café em dietas de vacas em lactação: consumo, digestibilidade e Produção de leite. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 34 (6), 2496-2504.
- Souza, A. L. D., Garcia, R., Bernardino, F. S., De Souza, J. M. C., Da Silva, C., valadares, F. L., Da Silva C. Gobbi, K. F. 2006. Casca de café em dietas para novilhas leiteiras: consumo, digestibilidade e desempenho. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 35 3:921-927.
- Spencer, T. E., Burghardt, R. C., Johnson, G. A., Bazer, F. W. 2004. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Animal Reproduction Science*. 82 (83), 537-550.
- Srinivasan, S., Avadhani, N.G. 2012. Cytochrome c oxidase dysfunction in oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*. 53 (6), 1252-63.
- Sroka, Z., Cisowski, W. 2003. Hydrogen peroxide scavenging, antioxidant and anti-radical activity of some phenolic acids. *Food and Chemical Toxicology*. 41, 753–758.
- Stookey, J. D. 1999. The diuretic effects of alcohol and caffeine and total water intake misclassification. *European Journal of Epidemiology*. 15, 181-188.
- Sugino, N., Nakamura, Y., Okuno, N., Ishimatu, M., Teyama, T., Karo, H. 1993. Effects of ovarian ischemia-reperfusion on luteal function in pregnant rats *Biology of Reproduction*. 49 (2),
- Suwalsky, M. and Avello, M. 2006. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea*. 494, 161–172.

- Turk, R., Podpečan, O., Mrkun, J., Kosec, M., Flegar-Mestrić, Z., Perkov, S., Starič, J., Robić, M., Belić, M., Zrimsek, P. 2013. Lipid mobilization and oxidative stress as metabolic adaptation processes in dairy heifers during transition period. *Animal Reproduction Science*. 141 (3), 109-115.
- Ulloa, R. J. B., Verreth, J. A. J., Amato, S., Huisman, E. A. 2003. Biological treatments affect the chemical composition of coffee pulp. *Bioresource Technology*. 89, 267-274.
- Uribe, V. L. F., Oba, E., Souza, M. I. L. 2008. Población folicular y concentraciones plasmáticas de progesterona (P4) en ovejas sometidas a diferentes protocolos de sincronización. *Archivos de Medicina Veterinaria*. 40 (1), 83-88.
- Uribe, V. L. F., Correa, O. A., Osorio, J. H. 2009. Características del crecimiento folicular ovárico durante el ciclo estral en ovejas. *Biosalud*. 8 (1), 117-131.
- Uribe, V. L. F., Oba, E., Lenz, S. M. I., Vélez, M. M., Correa, O. A. 2010. Follicular development in ewes during natural and prostaglandins induced estrous cycle. *Revista Científica-Facultad de Ciências Veterinarias*, 20 (4), 417-421.
- Van Houten, M. and Posner, B. I. 1981. Cellular basis of direct insulin action in the central nervous system. *Diabetologia*. 20 (3), 255-267.
- Vargas, E., Cabeza, M. y Bressani, R. 1977. Pulpa de café en la alimentación de rumiantes. Absorción y retención de nitrógeno en novillos alimentados con concentrados elaborados con pulpa de café deshidratada. *Agronomía Costarricense*. 1 (2), 101-106.
- Vogt, W. 1995. Oxidation of methionyl residues in proteins: Tools, targets, and reversal. *Free Radical Biology y Medicine*. 18, 93-105.
- Votavova, L., Voldrich, M., Sevcik, R., Cizkova, H., Mlejnecka, J., Stolar, M. y Fleisman, T. 2009. Changes on the antioxidant capacity of robusta coffee during roasting. *Czech Journal of Food Science*. 27, 49-52.
- Wildeus, S. 2000. Current concepts in synchronization of estrus: sheep and goats. *Journal of Animal Science*. 77, 1-14.
- Williams, L.M., Helliwell, R. A. 1993. Melatonin and seasonality in the sheep. *Animal Reproduction Science*. 33: 159-182.
- Yanagimoto, K., Ochi, H., Lee, K. G. y Shibamoto, T. 2004. Antioxidative activities of fractions obtained from brewed coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52, 592-596.

Youdim, K. A. and J. A. Joseph. 2001. A possible emerging role of phytochemicals in improving age-related neurological dysfunctions: a multiplicity of effects. *Free Radical Biology & Medicine*. 30, 583-594.