



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

G A N A D E R Í A

EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE L-ARGININA Y ACEITE DE
PESCADO EN EL COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO
DE OVEJAS DE PELO

GERÓNIMO FERMÍN BULBARELA GARCÍA

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLOS, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO.
2007

La presente tesis, titulada: **Efecto de la suplementación de L-arginina y aceite de pescado en el comportamiento reproductivo de ovejas de pelo**, realizada por el alumno: **Gerónimo Fermín Bulbarena García**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GANADERÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:



Dr. Carlos Miguel Becerril Pérez

ASESOR:



Dr. Jaime Gallegos Sánchez

ASESOR:



Dr. Arturo Pro Martínez

ASESOR:



Dr. Pablo Díaz Riveta

ASESOR:



Dr. Adalberto Rosendo Ponce

Montecillo, Texcoco, México. Noviembre, 2007

A G R A D E C I M I E N T O S

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo económico durante mis estudios.

Al Colegio de Postgraduados (CP), especialmente al Programa de Ganadería del Instituto de Recursos Genéticos y Productividad (IREGEP), por aceptarme para realizar mis estudios.

A la Universidad Autónoma Chapingo (UACH) y la Subdirección de Centros Regionales (SCRU), por el apoyo brindado. Especialmente a la Dra. Elba Pérez Villalba. Subdirectora Académica.

Al Sistema de Producción Agrícola, Pecuario, Forestal, Acuícola y Pesca (SPAPFAYP), por el apoyo.

Al Laboratorio de Reproducción de Ovinos y Caprinos (LaROCA), especialmente al Dr. Jaime Gallegos Sánchez, por la dirección de la tesis, confianza, amistad y tolerancia.

A los integrantes de mi Consejo Particular. Por su amistad, apoyo, conocimientos compartidos, aportes y sugerencias.

Dr. Carlos Miguel Becerril Pérez.

Dr. Jaime Gallegos Sánchez

Dr. Arturo Pro Martínez

Dr. Pablo Díaz Rivera

Dr. Adalberto Rosendo Ponce

A Alejandra Herrera Corredor, por realizar e interpretar los diagnósticos ultrasonográficos.

A Gladis Morales Teherán, por sus observaciones, sugerencias y apoyo durante la fase experimental.

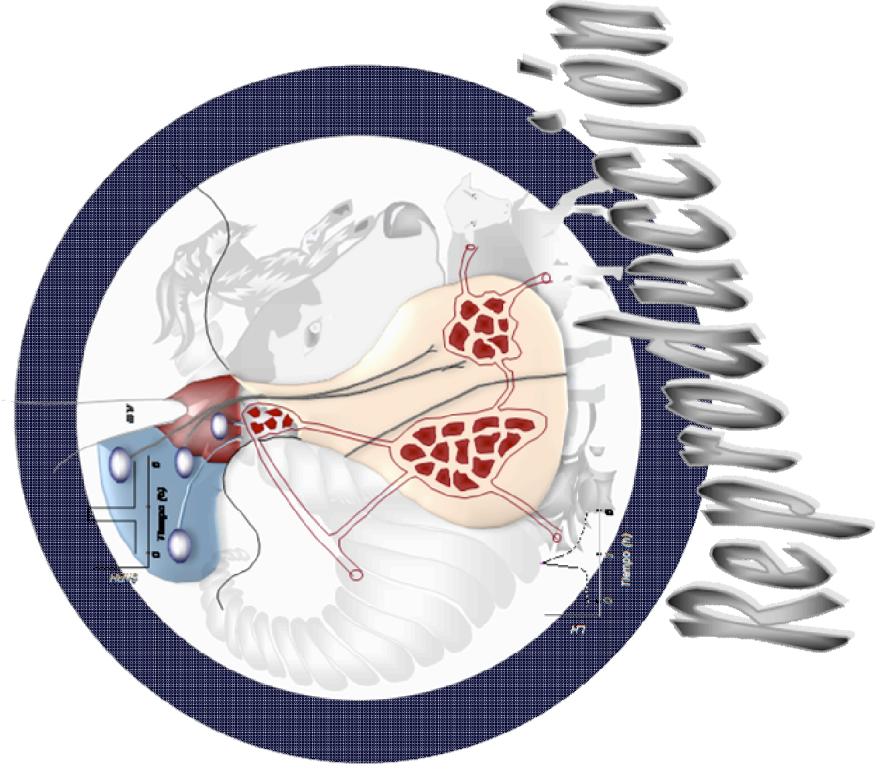
A los profesores del Programa de Ganadería, por los conocimientos transmitidos.

A los compañeros del Programa de Ganadería, a todos de la orientación en reproducción.

A los productores de ovinocaprinos y bovinos, especialmente aquellos de la vertiente oriental del Pico de Orizaba, porque de las necesidades de sus comunidades y de sus sistemas de producción nacen las interrogantes y el conocimiento que estamos obligados a devolver

Collegio de Postgraduados

Ganadería



Maestro en Ciencias

Reproducción Animal

CONTENIDO

Abreviaturas utilizadas	i
Índice de cuadros	ii
Índice de figuras	iv
Resumen	v
Abstract	vi
I INTRODUCCIÓN	1
II REVISIÓN DE LITERATURA	2
1.1 Situación actual y perspectivas de la ovinocultura en México	3
1.2 El ciclo estral y comportamiento reproductivo de la oveja de pelo	4
1.3 Desarrollo folicular y ovulación	7
1.4 La nutrición en el desarrollo folicular y tasa ovulatoria de la oveja	9
1.5 Ácidos Grasos Poliinsaturados (AGP)	14
1.6 Efecto de los aminoácidos en el comportamiento reproductivo	17
1.7 Metabolismo de L-arginina y sus relaciones con la fisiología reproductiva	18
III DEFINICIÓN DEL PROBLEMA	24
IV MATERIALES Y MÉTODOS	26
4.1 Localización	27
4.2 Características de los animales experimentales	27
4.3 Tratamientos	28
4.4 Protocolo de sincronización	29

4.5 Preparación del alimento y suplementación	29
4.6 Características estudiadas	30
4.7 Modelo estadístico	32
V RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
5.1 Tiempo de respuesta	34
5.2 Porcentaje de estros	39
5.3 Tasa Ovulatoria	42
5.4 Porcentaje de gestación	44
5.5 Prolifidad	47
VI CONCLUSIONES	50
LITERATURA CONSULTADA	52

Abreviaturas utilizadas

AFG	Acetato de Fluorogestona
AGP	Ácidos Grasos Poliinsaturados
BH₄	Tetrahidrobiopterina
CAT	Transportador de Aminoácidos Catiónicos
cGMP	Guanosín Monofosfato Cíclico
DHA	Ácido docosahexanoico
eNOS	Óxido Nítrico Sintetasa endotelial
EPA	Ácido eicosapentanoico
FSH	Hormona Foliculo Estimulante
GH	Hormona del crecimiento
GLUT1-4	Transportador de Glucosa 1-4
GnRH	Hormona Liberadora de Gonadotropinas
IGFBP1-5	Receptor de Membrana tipo 1 a 5 de IGF
IGF-I, II	Factor de Crecimiento análogo a la Insulina tipo I, II
IGF-IR	Receptor Intrafolicular de IGF
iNOS	Óxido Nítrico Sintetasa inducible
L-Arg	L-arginina
LH	Hormona Luteinizante
L-NAME	L-Nitro Metil Arginina Ester
MAP	Acetato de Medroxiprogesterona
NDR	No Digerible en Rumen
Ng ml⁻¹	Nanogramos por mililitro
nNOS	Oxido Nítrico Sintetasa neuronal
NO	Óxido Nítrico
PMSG (eCG)	Gonadotropina Sérica de Yegua Preñada (Gonadotropina Coriónica equina)
UI	Unidades Internacionales
uM	Milimolar

Índice de cuadros

Cuadro 1. Comportamiento productivo y consumo nacional aparente de carne de ovino en México (Miles de toneladas)	3
Cuadro 2. Comportamiento reproductivo y productivo de algunas razas de pelo.....	7
Cuadro 3. Periodos críticos de sensibilidad de la oveja en la tasa ovulatoria a factores nutricionales	11
Cuadro 4. Ejemplos del efecto de tipos de alimentos (grano de Lupinus), alimentos compuestos (heno de alfalfa, cebada y pasta de soya), un suplemento de proteína (harina de pescado), un suplemento a base de (almidón no degradable en rumen, ANDR) y productos de la digestión (acetato, aminoácidos) sobre la tasa ovulatoria de la oveja.	13
Cuadro 5. Composición de ácidos grasos de una mezcla de aceite de soya/atún y Lupinus utilizada como componentes de una dieta para ovejas lecheras.	14
Cuadro 6. Número de ovejas por tratamiento y etapa productiva.....	27
Cuadro 7. Suplementación y protocolo de sincronización realizado en las ovejas por tratamiento.	28
Cuadro 8. Número de ovejas y su tiempo de respuesta a estro según tratamiento.	34
Cuadro 9. Número de ovejas adultas y púberes detectadas en estro y su tiempo de respuesta por tratamiento.	36
Cuadro 10. Número de ovejas en estro de acuerdo al tiempo de diagnóstico y porcentaje total de estros por tratamiento.	38
Cuadro 11. Número de ovejas y porcentaje de estros detectados por tratamiento.	39
Cuadro 12. Número y porcentaje de ovejas adultas y púberes detectadas en estro por tratamiento.	41

Cuadro 13. Número de ovejas de acuerdo a la cantidad de cuerpos lúteos detectados por ultrasonografía y tasa ovulatoria por tratamiento.	42
Cuadro 14. Número de ovejas adultas y púberes de acuerdo al número de cuerpos lúteos detectados por ultrasonografía y tasa ovulatoria por tratamiento y etapa.	43
Cuadro 15. Número de ovejas y porcentaje de gestación según tratamiento.	45
Cuadro 16. Número y porcentaje de gestación de ovejas adultas y púberes según tratamiento.	46
Cuadro 17. Número de ovejas gestantes y prolificidad según tratamiento. ..	47
Cuadro 18. Número de ovejas gestantes por etapa y prolificidad según tratamiento.	49

Índice de figuras

Figura 1. Ciclo estral de la oveja	5
Figura 2. Posibles funciones e interacciones de L-arginina – Óxido Nítrico.....	21
Figura 3. Protocolo de investigación	29
Figura 4. Método de ultrasonografía transrectal	31
Figura 5. Curva para el tiempo de respuesta por tratamiento.....	37

EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE L-ARGININA Y ACEITE DE PESCADO EN EL COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO

DE OVEJAS DE PELO

Gerónimo Fermín Bulbarela García

Colegio de Postgraduados, 2007

Resumen

El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de la suplementación de L-arginina (ARG) y Aceite de Pescado (AP) en el tiempo de respuesta (TR), porcentaje de estros (PE), tasa ovulatoria (TO), porcentaje de gestación (PG) y prolificidad (PR) en ovejas de pelo tratadas con 40 mg 12 días⁻¹ de Acetato de Fluorogestona (AFG). Los tratamientos fueron: P. Progestágeno (n=7), PMSG. AFG + PMSG (Gonadotropina Sérica de Yegua Preñada) 400 UI (n=15), ARG. AFG + L-arginina 300 mg kg⁻¹ (n=17), ARGAP. AFG + L-arginina 300 mg kg⁻¹ mas Aceite de Pescado 6 % (n=16) y AP. AFG + Aceite de Pescado 6 % (n=15). Se encontraron diferencias significativas (P≤0.05) para TR en las ovejas del tratamiento PMSG *vs* P, ARG y ARGAP y AP. El PE fue diferente (P≤0.05) en PMSG y AP *vs* P, ARG, ARGAP. La TO sólo fue diferente (P≤0.05) en las ovejas adultas de los tratamientos ARG y ARGAP *vs* PMSG, P y AP. El PG entre ovejas adultas para los tratamientos PMSG y AP fue diferente (P≤0.05) *vs* ARG, ARGAP y P. La PR fue diferente (p≤0.05) en ARG *vs* las ovejas de los tratamientos P; PMSG; ARGAP y AP. La suplementación con 300 mg kg⁻¹ de L-arginina o aceite de pescado incrementaron la tasa ovulatoria y la prolificidad, pero con un mayor TR, menor porcentaje de estros y porcentaje de gestación.

Palabras clave: L-arginina, Aceite de pescado, Acetato de Fluorogestona, Tasa ovulatoria, Prolificidad.

**EFFECT OF L-ARGININE AND FISH OIL IN THE REPRODUCTIVE
PERFORMANCE OF HAIR SHEEP SYNCHRONIZATION**

WITH A PROGESTAGEN

Gerónimo Fermín Bulbarela García

Colegio de Postgraduados, 2007

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of the supplementation of L-arginine (ARG) and Fish Oil (AP) in the time of response (TR), Percentage of estrus (PE), Ovulatory rate (TO), Percentage of gestation (PG) and prolificity (PR) in hair sheep treated with 40 mg for 12 days⁻¹ of Fluorogestone Acetat (AFG). The treatments were P. Progestagen (n=7), PMSG. AFG + PMSG (Pregnant Mare of Serum Gonadotrophin) 400 UI (n=15), ARG. AFG + L-arginine 300 mg kg⁻¹ (n=17), ARGAP. AFG + L-arginine 300 mg kg⁻¹ plus Fish Oil 6 % (n=16) and AP. AFG + Fish Oil 6 % (n=15). The results showed a significant (P≤0.05) difference for TR in the sheep of the treatments PMSG vs P, ARG, ARGAP y AP. The PE was different (P≤0.05) in PMSG y AP vs P, ARG, ARGAP. The TO only was different (P≤0.05) in the adults sheep of the treatments ARG and ARGAP vs PMSG, P y AP. The PG between adults sheep for the treatments PMSG and AP were different (P≤0.05) vs ARG, ARGAP and P. La PR was different (P≤0.05) in ARG vs the sheep of the treatments P, PMSG, ARGAP and AP. The supplementation with 300 mg kg⁻¹ of L-arginine or Fish Oil increment the ovulatory rate and the prolificity, but with a high TR, percentage little of estrus and percentage of gestation.

Key words: L-Arginine, Fish Oil, Fluorogestone Acetat, Ovulatory rate, Prolificity.

I INTRODUCCIÓN

La población mundial de ovinos se estima en 1,052 millones de cabezas, de las cuales el 73.02% (768.1 millones) se concentra en Australia, Rusia, China, Nueva Zelanda, Irán, India, Argentina, Reino Unido, Sudán, Uruguay, España, Paquistán, Turquía, Sudáfrica y México. Sin embargo, su distribución es amplia, el 26.98% (283.9 millones) se localiza en diversos ambientes en el resto del mundo (FAO, 2004).

La producción nacional de ganado ovino en México en 2002, fue de 74,428 y en 2003 de 82,313 ton con una producción de carne en canal de 38,196 y 42,166 ton, respectivamente, correspondiendo a 1.8% de la producción nacional de ganado en pie y el 0.87% de la producción de carne en canal. Los 5 principales productores fueron los estados de México, Hidalgo, Veracruz, Puebla y Zacatecas (SIAP, 2003). El consumo nacional aparente (CNA) de 86,564 ton (0.7 kg año⁻¹ *per capita*), esta relacionado con el comportamiento en las importaciones, que para el año 2000 ascendieron a 53,174 ton, significando el 61% del CNA.

Por la importancia de la ovinocultura, es necesario mejorar su eficiencia reproductiva para incrementar la producción de carne en pie y en canal en los diversos sistemas agro-ecológicos y sistemas de producción animal en las zonas rurales. La eficiencia reproductiva de las ovejas esta determinada o influida por tres factores principales: fertilidad, prolificidad y supervivencia de corderos. La prolificidad está determinada primordialmente

por la tasa ovulatoria, pudiendo ser mejorada a través de la nutrición. (Scaramuzzi, 1988).

La nutrición influye en la fertilidad de los rumiantes directamente por la suplementación de nutrientes específicos requeridos para los procesos de desarrollo del oocito, para el proceso de ovulación, fertilización, sobrevivencia embrionaria y el establecimiento de la preñez. La nutrición tiene un impacto indirecto en la concentración circulante de hormonas y otros nutrientes que participan con metabolitos en los procesos mencionados (Robinson *et al.*, 2006).

II REVISIÓN DE LITERATURA

1.1 Situación actual y perspectivas de la ovinocultura en México

La producción nacional de carne de bovino en el 2005 contribuyó con el 39.0% del valor total de la producción, seguido por la carne de ave que aportó el 35.0% y la carne de porcino el 23.0%. Mientras que en conjunto la carne de ovino, caprino y guajolote participan con un 3.0% (Luna *et al.*, 2006).

La demanda de carne ovina es aproximadamente el doble de la producción nacional, la cual se estimó para 2006 en 47 mil ton (Cuadro 1), teniendo que recurrir a la importación de 32.5 mil ton para satisfacer un consumo *per capita* anual de apenas 700 g (SNIIM, 2006).

Cuadro 1. Comportamiento productivo y consumo nacional aparente de carne de ovino en México. (Miles de toneladas)

Ovino	2002	2003	2004	2005	2006
- Producción	38	42	44	46	47*
- Importación	56.0	43.1	58.5	36.0	32.5
- Oferta nacional ¹	94.2	85.3	102.8	76.0	79.7
- Consumo aparente ²	94.2	85.3	102.8	76.0	79.6
- Consumo Per cápita	0.9	0.8	1.0	0.7	0.7

* Cifras preliminares, de la producción 2006.

¹Oferta nacional = (producción + importación)

²Consumo nacional aparente = Producción+Importación

Fuente: SNIIM. <http://www.secofi-sniim.gob.mx/SNIIM-Archivosfuente/Comentarios/Otros/cnapec-06.xls>

El Sistema Nacional de Información e Integración de Mercados (SNIIM, 2006), reportó que para ese año fueron sacrificados en el Distrito Federal, provenientes de los estados de Aguascalientes, México, Hidalgo y Querétaro, 7273 ovinos con peso vivo medio de 44.6 ± 0.50 kg con un precio mínimo de \$ 23.75 \pm 2.36 y un máximo de \$ 26.75 \pm 2.06.

La participación de la producción de carne ovina en el valor total de la producción nacional es reducida, sin embargo, es importante considerar las preferencias de los consumidores de carne ovina por productos de calidad y

confiables, con esquemas de clasificación para la identificación y selección de canales. Como referencia y la finalidad de regular la producción de carne están vigentes las Normas Oficiales Mexicanas: NMX-FF-106-SCFI-2006, para la clasificación de las canales de ovinos; NOM-008-ZOO-1994 para las condiciones zoonositarias en la industria cárnica; NOM-009-ZOO-1994 para el procesamiento; NOM-024-ZOO-1995 para el transporte de animales y la NOM-033-ZOO-1995 para el sacrificio humanitario de animales (SAGARPA, 2006).

1.2 El ciclo estral y comportamiento reproductivo de la oveja de pelo

Las ovejas son poliestricas estacionales, presentando varios ciclos estrales en el otoño e invierno en el hemisferio norte. El ritmo anual de la ciclicidad ovárica se caracteriza por presentar una época de anestro y una época reproductiva (Goodman e Inskeep, 2006). Sin embargo, existen evidencias que las ovejas de pelo en clima calido presentan actividad ovárica todo el año (Castillo *et al.*, 1977) y la edad a la pubertad y a la primera concepción no se retrasan por efecto de la época de nacimiento (Rondon *et al.*, 2002).

El ciclo estral en la oveja tiene una duración entre 16 a 17 días, 24 horas antes de iniciar el estro sucede el pico preovulatorio de LH y la ovulación entre 24 a 30 horas después del estro (Figura 1). El momento de la ovulación y la duración del estro pueden variar en relación con factores internos (neuroendocrinos y metabólicos) y externos (alimentación y ambiente). El intervalo entre el inicio del estro y el pico preovulatorio de LH, así como entre el estro y la ovulación se incrementan cuando el número de ovulaciones es mayor. La duración del ciclo estral en la época de anestro y la época reproductiva entre razas de ovejas es ampliamente variable (Hafez y Hafez, 2003; Goodman y Inskeep, 2006).

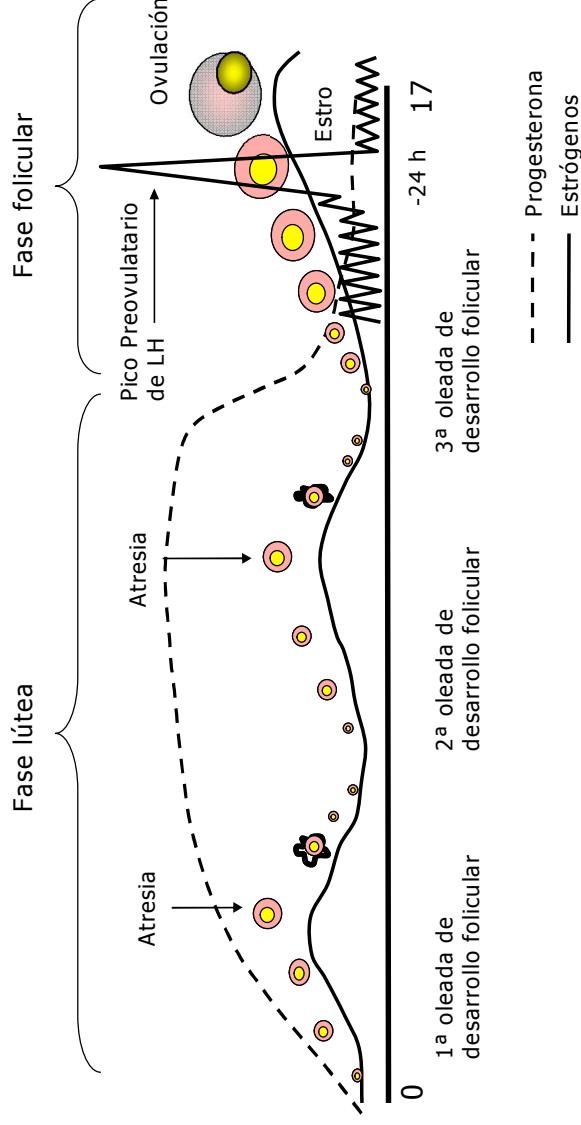


Figura 1. Ciclo estral de la oveja. Arroyo *et al*, (2005)

El periodo de actividad del cuerpo lúteo se llama fase lútea; tiene una duración de 14 a 15 días y la fase folicular es relativamente corta, con una duración de 2 a 3 días y comprende desde la regresión del cuerpo lúteo hasta la ovulación (Figura 1). La fase folicular no refleja la duración del crecimiento folicular (Hafez, 1988). El ciclo estral es el resultado de la interacción coordinada de cuatro órganos: cerebro, hipófisis, ovarios y útero, existiendo una comunicación entre ellos, que sucede por la producción y secreción de siete hormonas: Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH) por el hipotálamo, Hormona Luteinizante y Hormona Folículo Estimulante producidas por la hipófisis, estradiol, inhibina y progesterona por el ovario, y prostaglandinas (PGF_{2α}) por el útero (placenta) y cuerpo lúteo (Goodman y Inskoop, 2006).

La comunicación entre órganos y sus relaciones con la fisiología reproductiva es amplia y compleja, Tsukahara *et al*. (1998) mediante observación *in vitro* confirmaron que el óxido nítrico (NO) juega un papel importante como estimulador e inhibidor de la función del Glutamato en la secreción de GnRH desde el Núcleo Arcuato de la Eminencia Media, son los

estrógenos que potencializan el efecto estimulador y modulan la transducción de la señal por intermediación de NO el cual es regulado por la actividad de la NOS (óxido nítrico sintetasa) enzima que utiliza como sustrato indispensable L-arginina.

Existe una relación estrecha entre la secreción de GnRH y LH, sin embargo, la LH tiene un modo de secreción pulsátil de bajo nivel (secreción tónica, 2 a 10 ng ml⁻¹) siendo importante para la esteroidogenesis ovárica y una secreción de mayor amplitud (pico preovulatorio, 100 a 200 ng ml⁻¹) que sucede en torno al estro e induce la ovulación y formación del cuerpo lúteo (Arroyo *et al.*, 2006; Goodman y Inskoop, 2006).

EL cuerpo lúteo produce la progesterona (P₄), secretada dependiendo del nivel de estimulación por gonadotropinas y el estado fisiológico del ovario. La P₄ actúa a diferentes niveles 1) en el eje hipotálamo-hipófisis, regulando la secreción de gonadotropinas (crecimiento folicular, ovulación y luteinización) 2) estimulando el desarrollo de la glándula mamaria, y 3) en el útero influyendo en varios aspectos de la fisiología uterina, incluyendo la diferenciación del endometrio y el desarrollo de la placenta, la cual produce suficiente P₄ para mantener la gestación (Peluso, 2006).

Existen diversos factores en los sistemas de producción que interactúan con la fisiología animal, todos pueden interferir afectando o beneficiando el comportamiento reproductivo de las ovejas de pelo. Sin embargo, existen valores de referencia sobre el comportamiento reproductivo para infinidad de condiciones ambientales, nutricionales, sanitarias y de manejo reproductivo. Una integración de características productivas y reproductivas fue reportada por Fitzhunggh y Bradford (1983), llamándose índices de la productividad (IP) y eficiencia del rebaño (IF), donde: IP = (tamaño de la camanda x sobrevivencia de corderos x peso al nacimiento) /

intervalo entre partos e IF = IP / (peso ovejas adultas)^{0.75}; útiles para realizar comparaciones entre rebaños e inclusive entre razas (Cuadro 2).

Cuadro 2. Comportamiento reproductivo y productivo de algunas razas de pelo.

Característica	Pelibuey,		Islas		Barbados		Persa		Valores	
	West African	Virgenes	Blackbelly	cabeza negra	Idóneos					
Prolificidad, num corderos	1.22-1.24	1.61	1.71-1.84	1.08	1.5					
Intervalo entre partos, días	245-370	248	248	248	240					
Sobrevivencia de corderos	0.79	0.78	0.78	0.65	0.80					
Peso al nacimiento, Kg.	2.5	2.7	2.7	2.4	3.9±.9					
Peso oveja, Kg.	34-36	35	40	27-35	45					
Peso, Kg ^{0.75}	14.10	14.40	15.90	11.80	17.37					
IP	10.00	13.37	15.6	6.8	20.00					
IF	0.71	0.94	0.98	0.58	≥1.00					

Adaptado de Fitzhugh y Bradford (1983), Hernández y Fernández (1999)

1.3 Desarrollo folicular y ovulación

La foliculogénesis en las ovejas sucede desde la pubertad y a lo largo de la vida adulta, durante este tiempo una pequeña cantidad de los m illo nes de pequeños folículos alcanza el estado ovulatorio. El proceso de la foliculogénesis toma alrededor de 6 meses para que folículos primordiales se desarrollen hasta un diámetro de 2.5 mm, creciendo independientemente del estímulo de gonadotropinas y sin existir una secreción significativa de estradiol. Sin embargo, el crecimiento de 2.5 a 5 mm ocurre en pocos días, siendo un paso crítico en la selección de un folículo dominante con actividad estrogénica que depende del ambiente hormonal (Souza *et al.*, 1997). Además, el desarrollo del folículo es un proceso complejo que involucra la integración de múltiples señales de diversos órganos (Rajkovic *et al.*, 2006). Durante la fase lútea se presentan varias ondas de desarrollo folicular, el tamaño y la capacidad estrogénica de los folículos antrales grandes varía durante periodos específicos del crecimiento folicular, caracterizando los

estados de dominancia morfológica y funcional de los folículos en las ovejas (Souza *et al.*, 1997).

Los factores de crecimiento análogos a la insulina (IGF's por sus siglas en inglés) y las proteínas de unión de los IGF's (IGF-BP's) están involucrados en la foliculogénesis, estimulando la proliferación de células de la granulosa y la esteroidogénesis en células de la teca. Las concentraciones de IGF-I y IGF-II no cambian después que concluye el crecimiento folicular y la atresia. En contraste, los niveles de los receptores específicos IGFBP-2 y IGFBP-4 disminuyen y IGFBP-5 en rumiantes se incrementa. Estos cambios en los receptores son los responsables de un incremento o disminución en la biodisponibilidad de IGF's durante el crecimiento folicular y la atresia. En particular, la expresión del mRNA para IGFBP-2 disminuye durante el crecimiento folicular en las ovejas, incrementando el mRNA para IGFBP-5 en folículos en atresia (Monget *et al.*, 2002).

El sistema IGF's intrafolicular es afectado por tratamientos nutricionales, principalmente glucosa y proteína. Los sistemas de receptores intrafoliculares para IGF (IGF-IR) y receptores de superficie IGFBP-2 son diferencialmente regulados por la nutrición, pero los tratamientos nutricionales son altamente variables sugiriendo que las ovejas tienen un mecanismo regulador complejo (Muñoz-Gutiérrez *et al.*, 2004).

1.4 La nutrición en el desarrollo folicular y tasa ovulatoria de la oveja

La cantidad y calidad de nutrientes consumidos por las ovejas de pelo son usualmente restrictivos por el pastoreo diurno y el resguardo nocturno, restringiendo el consumo de nutrientes necesarios para su capacidad productiva y reproductiva (Fitzhung y Bradford, 1983).

Existen influencias nutricionales indirectas sobre las concentraciones circulantes de hormonas, producción de metabolitos y otros eventos fisiológicos sensibles a nutrientes que son requeridos para el éxito de los procesos de gametogénesis, ovulación, fertilización, supervivencia embrionaria, reconocimiento materno, establecimiento y mantenimiento de la gestación. Los efectos nutricionales en la reproducción pueden ser regulados por el uso y manejo de los sistemas de alimentación (Robinson *et al.*, 2006).

Los efectos de la suplementación nutricional en la oveja en las concentraciones de hormonas metabólicas relacionadas con la reproducción que regulan la foliculogénesis y la tasa ovulatoria fue revisado por Scaramuzzi *et al.* (2006) indicando que la suplementación con Lupinus por periodos cortos provoca un incremento en las concentraciones de insulina y leptina, disminuye la hormona del crecimiento (GH) y las concentraciones de factores de crecimiento análogos a la insulina permanecen sin cambios. Existen también, diferencias en los niveles plasmáticos de hormonas, incrementándose los niveles de FSH y disminuyendo los de estradiol.

La nutrición es uno de los factores más importantes que afectan la tasa ovulatoria. La suplementación con *Lupinus angustifolius* durante 4 a 6 días, un grano altamente energético y proteico, puede ser suficiente para incrementar la tasa ovulatoria de las ovejas (Oldham y Lindsay, 1984, Viñoles, 2003). Sin embargo, investigaciones recientes han demostrado que durante el desarrollo fetal los ovarios son muy sensibles a la nutrición

materna con subsecuentes efectos en la tasa ovulatoria, aunque en la edad reproductiva responden a la suplementación, la tasa ovulatoria es menor si hubo deficiencias durante el periodo fetal (Robinson *et al.*, 2006).

La alimentación animal con algún suplemento rico en nutrientes específicos requeridos en periodos críticos para mejorar el crecimiento, desarrollo, producción o reproducción se le ha llamado suplementación estratégica. El efecto de la suplementación estratégica, incluyendo *Lupinus sp.*, es efectiva proporcionándola entre 8 y 5 días antes de la ovulación, pero puede ser negativa o no tener efecto al suplementar entre el día 4 o 1 antes de la ovulación (Stewart y Oldham, 1986). Viñoles *et al.* (2005) encontraron que la suplementación por un periodo corto antes de la ovulación en ovejas con baja condición corporal no tiene efecto en la tasa de ovulación.

Nottle *et al.* (1987) observaron que el incremento en la tasa de ovulación como respuesta a la suplementación con *Lupinus* es debida a un mayor nivel de secreción de LH durante la fase lútea. La suplementación con *Lupinus* es una fuente de energía metabolizable y la proteína cruda (32 -35 %) puede ser suficiente, pero es altamente degradable en rúmen (Rodehutsord *et al.*, 1999). Los mismos autores, indicaron que la degradabilidad ruminal de los aminoácidos no es igual para todos ellos y el tratamiento de *Lupinus* con calor y formaldehído no garantiza un método ideal para incrementar la proteína no degradable en rumen. Sin embargo, Rémond *et al.* (2003) consideraron que el tratamiento con calor y extrusión de semillas de lupinos puede ser un método para asegurar un aporte de proteína de sobrepaso.

Los cambios en los niveles endógenos de leptina, FSH, 17 β -estradiol y metabolitos fueron cuantificados por Kosior-Korzecka y Bobowiec (2003) en ovejas alimentadas con *Lupinus angustifolius* y comparadas con ovejas alimentadas sólo con heno, observaron que las ovejas del grupo *Lupinus*

tuvieron altas concentraciones de leptina (2.7 vs 1.42 ng ml⁻¹), de FSH (105.21 vs 67.88 ng ml⁻¹), glucosa y nueve aminoácidos glucogénicos (Glicina, Alanina, Valina, Metionina, Leucina, Isoleucina, Tirosina, Fenilalanina y Arginina) y los niveles de estradiol fueron significativamente menores en el grupo de ovejas alimentadas con *Lupinus*.

En ovejas existen periodos críticos de sensibilidad nutricional (Cuadro 3) que afectan la tasa ovulatoria, 6 meses antes de la ovulación, cuando sucede el reclutamiento de los folículos primordiales la deficiencia nutricional disminuye el número de folículos preovulatorios (Robinson *et al.*, 2006). Sin embargo, en las ovejas de pelo el ambiente, las enfermedades, el clima y el manejo también son factores que pueden interferir en la fertilidad (Fitzhugh y Bradford, 1983).

Cuadro 3. Periodos críticos de sensibilidad de la oveja en la tasa ovulatoria a factores nutricionales

Periodo	Órgano	Mecanismo
<u>Fetal</u>		
Día 50-65	Ovario fetal	- Alteración en la meiosis en células germinales
<u>Adulta</u>		
6 meses preovulación	Ovario	- Disminuye el número de folículos que emergerán de los folículos primordiales
10 días preovulación	Hipotálamo Hipófisis	- Cambios en el crecimiento folicular y atresia, calidad de los oocitos y tasa de ovulación
8-4 días preovulación	Ovario	- Cambios en el crecimiento folicular y atresia, calidad de los oocitos y tasa de ovulación

Robinson *et al.* (2006)

El incremento en los niveles de energía durante un periodo corto puede incrementar la tasa de ovulación (Downing y Scaramuzzi, 1991). Oldham y Lindsay (1984) mencionaron que durante la suplementación con grano de *Lupinus sp* por un periodo corto (6-9 días) incremento la tasa de ovulación

entre un 20 a 30 %. Sin embargo, Williams *et al.* (2001) evaluaron los efectos de la suplementación nutricional (Testigo *vs* Lupinus *vs* Mezcla Glucogenica (glicerol+propanediol) por 8 y 12 horas) en la concentración de los transportadores de glucosa celular (GLUT1 y GLUT4), no encontrando diferencias en las concentraciones de estos transportadores, tas a ovulatoria, ni correlaciones con las concentraciones de estradiol o androstenediona . Aunque si hubo un incremento en las concentraciones de glucosa e insulina.

La suplementación nutricional al momento del empadre y una o dos semanas antes, en ovejas de pelo incrementa, la tasa de parición en 11.6 % con 0.14 % más corderos por parto, pero la prolificidad (tamaño de la camada) no es diferente con la suplementación de energía (Valencia y Gonzáles, 1983). Por otro lado, las infusiones de insulina en ovejas adultas no incrementan la tasa de ovulación (Hinch y Roelofs, 1986) pero si en ovejas jóvenes (Beam y Holcombe, 1992). El tipo de suplemento, la duración y el momento de la suplementación influyen en la tasa ovulatoria. Algunos ejemplos del efecto de varios tipos de alimentos sobre la tasa ovulatoria se presenta en el cuadro 4.

Cuadro 4. Ejemplos del efecto de tipos de alimentos (grano de Lupinus), alimentos compuestos (heno de alfalfa, cebada y pasta de soya), un suplemento de proteína (harina de pescado), un suplemento a base de almidón no degradable en rumen, ANDR) y productos de la digestión (acetato, aminoácidos) en la tasa ovulatoria de la oveja.

Tratamiento	Raza	Testigo	Suplemento
Grano de Lupinus (500g día⁻¹)			
Días antes de la ovulación			
15 - 9	Merino	1.03 ± 0.06	1.43 ± 0.08
11 - 15		1.08 ± 0.08	1.53 ± 0.08
7 - 0		1.10 ± 0.07	1.40 ± 0.08
0.7 kg día⁻¹ Mezcla 60:30:10			
Heno alfalfa, cebada, pasta soya			
14 días pre-ovulación	Aragonesa	1.50 ± 0.16	2.22 ± 0.16
0.1 kg/ día harina de pescado			
14 días pre-ovulación	Aragonesa	1.50 ± 0.16	1.88 ± 0.12
100 g día⁻¹ almidon ANDR			
22 días pre-ovulación	Fec ^{B*}	2.46 ± 0.31	3.29 ± 0.27
	No Fec ^{B*}	1.36 ± 0.34	1.44 ± 0.25
1122 mM día⁻¹ Acetato I.V.**			
9 días pre-ovulación	Merino	1.32	1.51
60 - 65 mM h⁻¹ Glucosa I.V			
9 - 4 días pre-ovulación	Border	2.00 ± 0.00	2.40 ± 0.30
12.3, 9.5 y 11.3 g día ⁻¹ leucina, valina e isoleucina, respectivamente.	LeicesterxMerino		
9 - 4 días pre-ovulación	Border	1.54 ± 0.16	2.35 ± 0.18
	LeicesterxMerino		

* Ovejas de la raza Merino portadoras del gen Boorola (prolíficas Fec^B) y no portadoras (No Fec^B).
 ** I.V. = Intravenosa.

Adaptado de Robinson *et al*, (2006)

1.5 Ácidos Grasos Poliinsaturados (AGP)

Las grasas y los aceites son las formas principales de almacenamiento de energía, los fosfolípidos y esteroides (colesterol) son importantes constituyentes de las membranas celulares. Algunos lípidos, aun en cantidades muy pequeñas, son cofactores enzimáticos, transportadores electrónicos, pigmentos, anclajes hidrofóbicos, agentes emulsificantes, hormonas y mensajeros intracelulares (Nelson y Cox, 2000).

La utilización de ácidos grasos poliinsaturados en la nutrición animal ha tenido un interés creciente, inicialmente con la tendencia de incrementar las concentraciones de ácidos grasos en la leche bovina u ovina (Cuadro 5) destinada para consumo humano (Kitesa *et al.*, 2003). Por otro lado, varios autores sugieren que el efecto de la suplementación de grasa en la fertilidad de las vacas probablemente es resultado de los ácidos grasos sobre la hipófisis, ovarios y útero, independientemente de la energía (Mattos *et al.*, 2000).

Cuadro 5. Composición de ácidos grasos de una mezcla de aceite de soya/atún y Lupinus utilizada como componentes de una dieta para ovejas lecheras.

Contenido	Aceite de soya 70% +		Lupinus
	Aceite de atún 30%		
Grasa total (g kg ⁻¹ total MS)	374		64
Ácidos Grasos (g kg ⁻¹ total Grasa)			
14:0 n-tetradecanoico. Mirístico	20		24
16:0 n-hexadecanoico. Palmítico	175		118
16:1 cis-9-hexadecanoico. palmitoleico	28		nd
18:0 n-octadecanoico. Esteárico	52		56
18:1 cis-9-octadecanoico. Oleico	177		316
18:2 n-6 cis-12-octadecadienoico. Linoleico	203		430
18:3 n-3 cis-15-octadecatrienoico. Linolenico	45		52
20:5 n-3 Eicosapentanoico	31		nd
22:6 n-3 Docosahexanoico	140		nd

Adaptado de Kitesa *et al.* (2003) nd = no determinado.

Actualmente se ha reconocido la importancia del ácido eicosapentanoico (EPA) y docosahexanoico (DHA) por los efectos que tienen en la fertilidad de los animales. El aceite de pescado, es una fuente rica en estos dos ácidos grasos que provocan una disminución de oxitocina inducida por la secreción de prostaglandinas en el día 15 después del estro y mejoran la supervivencia embrionaria (Robinson *et al.*, 2006). El incremento en la disponibilidad de precursores de ácidos grasos incrementa la secreción de esteroides y eicosanoides, que pueden alterar la función ovárica y uterina afectando la tasa de preñez (Mattos *et al.*, 2000).

El incremento de ácidos grasos poliinsaturados en la dieta de la vaca productora de leche puede influir en la síntesis de prostaglandinas y esteroides. Los ácidos linolénico y linoleico reducen los niveles de progesterona, particularmente en la fase lútea temprana, incrementando el número de folículos de tamaño medio (5-10 mm de diámetro). Las vacas que recibieron ácido linoleico pero no linolénico presentaron altos niveles de colesterol y factores de crecimiento análogos a la insulina tipo I (IGF-I). Las vacas que recibieron ácido linolénico pero no linoleico presentaron un incremento en estradiol plasmático durante la fase folicular (Robinson *et al.*, 2002). La suplementación con aceite vegetal redujo el tiempo para el reinicio de la actividad ovárica postparto e incremento las concentraciones de colesterol, triglicéridos y lípidos totales (Marín *et al.*, 2007).

Existen efectos benéficos de los ácidos grasos poliinsaturados en la salud, principalmente de los n-3, EPA y DHA, por sus siglas en inglés. En humanos reducen el riesgo de enfermedades cardiovasculares (Sheard, 1998), incrementan el desarrollo del cerebro y agudeza visual en infantes (Hoffman *et al.*, 1993), modulan el sistema inmune (Calder, 1998; Grimble, 1998) y reducen los procesos inflamatorios (Kinsella, 1986). Por todo lo anterior, al menos en humanos, se recomienda el consumo de pescado y sus

derivados (harina y aceite) que contienen alto contenido de AGP n -3 (omega 3 y 6). Sin embargo, el consumo de estos productos es reducido (Kiteessa *et al.*, 2003).

Entre los principales constituyentes de las dietas que afectan la producción de óxido nítrico están los ácidos grasos polinsaturados (AGP), como importantes el omega 3 y 6, los cuales estimulan a las células endoteliales y células del músculo liso por su acción en la eNOS (óxido nítrico sintetasa endotelial), Ca (Calcio), nicotinamida adenosina difosfato reducida (NADPH) y tetrahidropterina (BH4); el ácido omega 9 provoca una disminución en la actividad de las células endoteliales y células del músculo liso por su efecto en la actividad de NOS endotelial.

El ácido araquidonico y DHA son importantes en sementales bovinos para el funcionamiento del sistema enzimático antioxidante que permite una integridad de la membrana espermática, motilidad y viabilidad celular, disminuyendo la sensibilidad del semen al congelamiento (Rooke *et al.*, 2001).

Son varios los factores con efectos fisiológicos en la producción y reproducción animal, en la conservación de la salud y respuesta a las enfermedades, entre ellos, la L-arginina como sustrato indispensable en la producción de óxido nítrico (NO). El metabolismo del óxido nítrico es regulado por factores nutricionales en los diversos tipos celulares, sea por estimulación o inhibición de las enzimas NOS, o sus cofactores (Ca, BH4, NADPH) o el sustrato indispensable L-arginina. (Wu y Meininger, 2002).

1.6 Efecto de los aminoácidos en el comportamiento reproductivo

El pico preovulatorio de hormona estimulante de las gonadotropinas (GnRH) es esencial en la reproducción de los mamíferos y neurotransmisor glutamato y oxido nítrico tienen un papel importante en este proceso. Altas concentraciones de glutamato se han encontrado en núcleos del hipotálamo importantes en la secreción de GnRH. La administración del agonista de glutamato estimula la producción de GnRH y la secreción de LH, por el contrario, si son utilizados antagonistas de glutamato disminuyen los esteroides y el pico preovulatorio de LH. El glutamato también esta relacionado en procesos críticos para el inicio de la pubertad, la pulsatilidad hormonal y comportamiento sexual. Se ha considerado que el glutamato regula todos estos efectos por activación en la producción del neurotransmisor gaseoso oxido nítrico (Dhandapani y Brann, 2000).

Diversos aminoácidos han sido evaluados para conocer sus efectos fisiológicos en la reproducción de los animales. Bajo la hipótesis que el aminoácido L-arginina puede actuar como un potente estimulador de la hormona del crecimiento y desempeña un papel en la secreción de Hormona Luteinizante (LH) sólo al ser convertido a ornitina, Recabarren *et al.* (1996^a) analizaron el efecto de estos aminoácidos sobre la concentración y amplitud pulsátil en la secreción de LH, no encontrando diferencias significativas en el número de pulsos de LH durante 285 minutos de muestreo en los tratamientos de L-ornitina vs Solución salina (testigo), pero sí con respecto a L-arginina.

El efecto de suplementación de L-arginina mezclada en el alimento en el inicio de la pubertad y peso de ovejas fue evaluado por Hamra *et al.* (2003) encontrando diferencias ($p \leq 0.01$) en la edad a la pubertad de ovejas suplementadas contra las no suplementadas, observando 208.20 ± 2.65 d *vs* 186.69 ± 3.02 , respectivamente. No sólo en ovejas se ha evaluado los efectos

de la suplementación o infusión parenteral de aminoácidos sobre el comportamiento reproductivo o efectos fisiológicos. La infusión intravenosa en equinos de ácido aspártico incrementó las concentraciones de hormona del crecimiento (GH) en yeguas, a los 30 minutos postinfusión de L-arginina las concentraciones plasmáticas de prolactina se incrementaron en 9/9 equinos e insulina en yeguas pero no en machos y elevó los niveles de FSH en 4 machos de 9 equinos (Sticker *et al.*, 2001).

1.7 Metabolismo de L-arginina y sus relaciones con la fisiología reproductiva

El aminoácido L-arginina fue aislado por primera vez en 1886 de semillas de *Lupinus sp* y muchos años después fue identificado como constituyente de las células animales (Wu y Morris, 1998). Las semillas de *Lupinus* de las especies forrajeras como *Lupinus albus*; *L. angustifolius* y *L. luteus*, contienen 11.6 %, la soya 4.6 % y el sorgo 3.5 % de L-arginina como porcentaje de la proteína cruda (FAO, 2006). Este aminoácido tiene un alto contenido de nitrógeno con importantes funciones anabólicas; además es parte del ciclo de la úrea (Leonard, 2001). Bajo condiciones normales, no es un aminoácido esencial, pero en ciertas situaciones de tensión puede ser requerido (Visek, 1985). El aminoácido L-arginina ejerce una acción sistémica, virtualmente en todo tipo de células, sus principales efectos son incrementando la actividad de NOS endotelial y BH4. (Wu y Meininger, 2002).

El L-arginina es un aminoácido que estimula la secreción de hormona luteinizante (LH) en aves (Potenza *et al.*, 2001) la hormona del crecimiento (GH), la hormona estimulante de gonadotropinas (GnRH) y la hormona luteinizante (LH) en ovejas prepúberes (Recabarren *et al.*, 1996b). Este aminoácido también tiene efectos fisiológicos en el feto, estimulando la

secreción de insulina en fetos humanos y ovinos (Milner *et al.*, 1972; Fowden, 1980) y la secreción de hormona del crecimiento y Glucagón (Palmer *et al.*, 1975).

El sustrato indispensable de la enzima óxido nítrico sintetasa (NOS) para la producción de óxido nítrico (NO), es la L-arginina. El NO se relaciona con diversos sistemas fisiológicos, en la conservación de la homeostasis animal, la regulación de la presión sanguínea, respuesta inmune, neurotransmisión, función ovárica, desarrollo folicular y ovulación (Wu y Morris, 1998; Alderton, 2001; Squire, 2001).

El aminoácido L-arginina es de los más versátiles en las células animales, no sólo es utilizado para la síntesis de proteína, es precursor de óxido nítrico, urea, poliaminas, prolina, glutamato, creatinina y agmatina. Las enzimas que intervienen en la síntesis y catabolismo de la L-arginina son la arginosuccinato sintetasa, arginasa I y II, las tres isoformas en la producción de óxido nítrico, la óxido nítrico sintetasa neuronal (nNOS), óxido nítrico sintetasa endotelial (eNOS) y la óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS). Estas enzimas, además de los transportadores de aminoácidos catiónicos (CAT), han sido descubiertos en años recientes y se ha establecido la importancia de L-arginina en una gran variedad de funciones metabólicas (Wu y Morris, 1998; Squire, 2001).

El óxido nítrico y el monóxido de carbono (CO), son dos gases que actúan como segundos mensajeros, en la detección de olores al estimular a las células ciliadas para la producción de cGMP (Schild y Restrepo, 1998). El NO es un gas químico (mensajero químico) que actúa localmente en los tejidos y está involucrado en la relajación vascular, la respuesta del sistema inmune, la función de plaquetas y como un neurotransmisor. Es sintetizado a partir de L-arginina por acción de la enzima dependiente de los niveles intracelulares de calcio, Oxido Nítrico Sintetiza (NOS). La NOS existe en un

número diferente de isoformas en tejidos específicos incluyendo una isoforma neuronal (nNOS; Squires, 2001)

El Óxido Nítrico está involucrado en el mecanismo del pico preovulatorio de LH y también actúa en el ovario influyendo en la esteroidogenesis, ovulación y la luteolisis. Se produce por acción de la nNOS en neuronas específicas y difunde a neuronas adyacentes productoras de GnRH. En las neuronas productoras de GnRH, el óxido nítrico actúa sobre la enzima guanilato ciclasa intracitoplasmática para incrementar los niveles de cGMP y en el ovario sobre la ciclooxigenasa que a su vez actúa incrementando la síntesis de prostaglandinas (PGE₂), las cuales provocan luteolisis y por lo tanto se incrementa la frecuencia en los pulsos de GnRH. La Leptina actúa vía un incremento de NO en el hipotálamo y la hipófisis para incrementar la secreción de LH. Las neuronas productoras de Glutamato y Noradrenalina (Norepinefrina) también estimulan la producción de NO. En el ovario, la actividad de NOS se incrementa durante el pico preovulatorio de LH, estimulando la producción de prostaglandinas e interviene en los procesos inflamatorios de la ovulación (Brann *et al.*, 1997; Dhandapani y Brann, 2000; Squires 2001; Gonzáles Padilla, 2003)

El óxido nítrico también es un potente vasodilatador, regulando la presión arterial general. Gibson *et al.* (2004) mostraron que las células endoteliales de las arterias uterinas se relajan durante la conversión enzimática de L-arginina a L-citrulina. La oxido nítrico sintetasa endotelial (eNOS) fue inhibida por el análogo de L-arginina, la L-nitro arginina metil ester (L-NAME) comprobando que el oxido nítrico controla, en parte, la circulación en las arterias uterinas durante la fase folicular en la oveja. La producción de óxido nítrico por la vasculatura de los cuernos uterinos incrementa el flujo sanguíneo y el aporte de nutrientes .

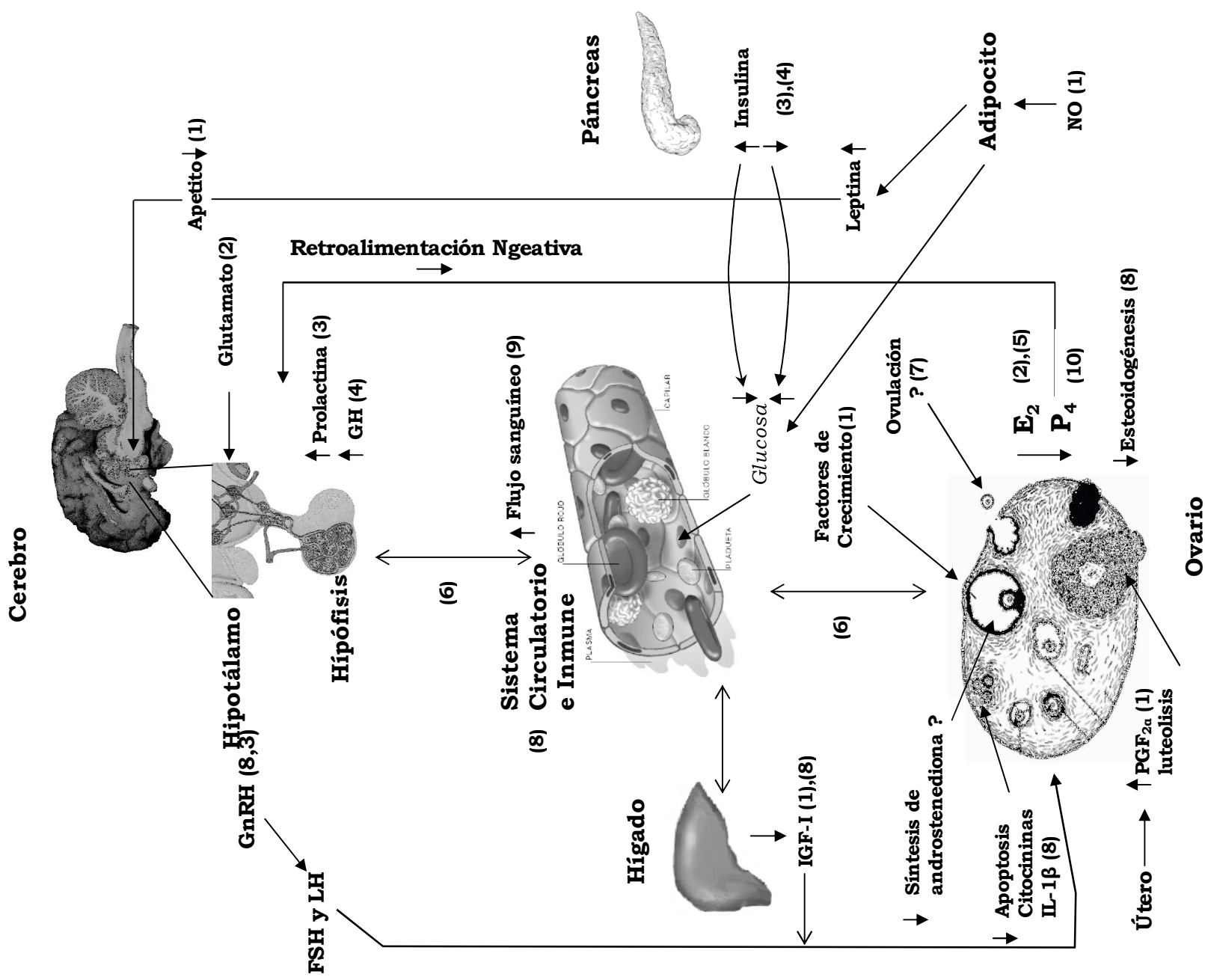


Figura 2. Posibles funciones e interacciones de L-arginina - Óxido Nítrico (NO; Ver texto 1-10).

1. La óxido nítrico sintetasa (NOS) se activa por un influjo de Ca^{2+} , el cual es modulado vía calmodulina (CaM). La NOS cataliza la conversión de L-arginina y O_2 a óxido nítrico (NO) y citrulina. El NO actúa sobre la ciclooxigenasa (COX) que convierte ácido araquidónico a prostaglandina (PGE_2). Las PGE_2 activa la adenilato ciclasa incrementando la adenosina monofosfato cíclico (cAMP), que es un segundo mensajero con múltiples vías enzimáticas en neuronas blanco. (Calka, 2006). Los estrógenos incrementan la síntesis de NO y éste reduce el consumo de alimento (Aoyama *et al.*, 1998).
2. Los estrógenos modulan los efectos del glutamato alterando la acción del óxido nítrico (Tsukahara *et al.*, 1998).
3. La infusión intravenosa de L-arginina en equinos, incrementó los niveles de insulina y prolactina (Sticker *et al.*, 2001). En conejos la concentración de NO en semen fue significativamente correlacionada ($r=0.624$) con el consumo de L-arginina, incrementó la concentración y disminuyó la motilidad espermática (Sukardi *et al.*, 2006).
4. La administración de insulina a ovejas alimentadas causa hipoglucemia. La hipoglucemia estimula la secreción de la hormona del crecimiento similar que en humanos y la respuesta es dependiente del grado de alimentación y la dosis de insulina (Jaffe *et al.*, 1999).
5. El óxido nítrico es un regulador de la función ovárica, suprimiendo la producción de estradiol y progesterona por los folículos y el cuerpo lúteo (Van Voorhis *et al.*, 1994).
6. La producción local de NO es importante para el mantenimiento del flujo sanguíneo del ovario en ratas (Mitsube *et al.*, 2002). La vasculatura folicular y el constante aporte sanguíneo es importante para el desarrollo y dominancia folicular (Acosta, 2007).
7. La aplicación en conejos de inhibidores de la enzima óxido nítrico sintetasa bloquea la ovulación por inhibición en la producción de prostaglandinas (Yamauchi *et al.*, 1997). Sin embargo, in Vitro con

ovarios de ratón no reportan los mismos resultados (Mitchell *et al.*, 2004).

8. El NO regula la producción basal de GnRH, disminuye la esteroidogénesis ovárica, incrementa los factores de crecimiento, disminuye la apoptosis en conjunción con citocinas especialmente IL-1 β . La producción de citocinas se incrementa por el efecto de la NOS inducible del sistema inmune, se ha demostrado que la NOS inducible es suprimida por GnRH (Tamanini *et al.*, 2003). El NO regula las concentraciones de IGF y IGFBP (Iñiguez *et al.*, 2001). En el cerebro el NO es formado desde L-arginina similar a las células del endotelio, neutrofilos y macrófagos (Knowles *et al.*, 1989).
9. Una deficiencia de NO estimulada por el inhibidor de NOS N-nitro-L-arginina (L-NNA) en la rata provocó alta presión sanguínea, ninfomanía, altos niveles de estradiol, probablemente por un incremento en la síntesis de androstenediona (?; Dunnam *et al.*, 1999).
10. Las sustancias donadoras de óxido nítrico reducen y las sustancias que inhiben la NOS incrementan la producción de progesterona por las células lúteas de bovino (Jaroszewski *et al.*, 2003).

III DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

La suplementación de nutrientes específicos influye en las concentraciones plasmáticas de hormonas, metabolitos y la fisiología reproductiva, estableciéndose la interacción nutrición-reproducción. Diversos nutrientes son requeridos para el éxito de la gametogénesis, ovulación, fertilización, supervivencia embrionaria, reconocimiento materno, establecimiento y mantenimiento de la gestación (Robinson *et al.*, 2006). La suplementación con Lupinus por periodos cortos incrementa las concentraciones de glucosa, insulina, FSH y leptina, atribuyéndoles un incremento en la tasa ovulatoria (Scaramuzzi *et al.*, 2006). Sin embargo, Somchitac *et al.* (2007) con la misma suplementación no reportó una diferencia en el número de folículos, aunque si un incremento en las concentraciones plasmáticas y folicular de glucosa e insulina en plasma. Los efectos de la suplementación en el control neuroendocrino de la foliculogénesis son contradictorios y complejos. Es importante investigar las alternativas nutricionales menos exploradas en las ovejas. El grano de Lupinus está considerado como fuente de energía y proteína, sin embargo, también es uno de los granos con mayor cantidad de L-arginina, que es sustrato indispensable para la enzima óxido nítrico sintetasa en la producción de óxido nítrico, el cual está considerado como un tercer mensajero. El aceite de pescado, además de ser una fuente de energía, es rico en ácidos grasos poliinsaturados, principalmente omega 3 y 6. Por lo anterior, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la suplementación por 3 días antes del empadre de L-arginina y aceite de pescado en el comportamiento reproductivo de la oveja de pelo. Las hipótesis planteadas fueron: 1) La suplementación con L-arginina y aceite de pescado influye en el comportamiento reproductivo. 2) El comportamiento reproductivo es similar aun sin el uso de gonadotropina sérica de yegua preñada (PMSG) al retirar las esponjas, porque el óxido nítrico estimula la producción de gonadotropinas.

IV MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Localización

El estudio se realizó durante la época reproductiva 2006 - 2007 en el Laboratorio de Ovinos y Caprinos (La ROCA) del Colegio de Postgraduados, ubicado en Montecillo municipio de Texcoco, Edo. de México, localizado en las coordenadas geográficas 98° 53' O y 19° 29' N y con altitud de 2250 msnm. El clima corresponde a un Cb(wo)(w)b(i') templado sub-húmedo, con lluvias en verano, precipitación media anual de 636.5 mm y una temperatura media anual de 15.2 °C (García, 1988).

4.2 Características de los animales experimentales

Se utilizarán 70 ovejas de pelo con diagnóstico de gestación negativo por ultrasonido (Cuadro 6), con peso vivo de 38.94 ± 10.18 kg. 44 hembras adultas con peso vivo de 44.49 ± 8.51 kg y al menos un parto y 26 púberes con peso vivo de 29.55 ± 4.02 kg.

Cuadro 6. Número de ovejas por tratamiento y etapa productiva

Etapa	Tratamiento			
	P	PMSG	ARG	ARGAP AP
Adultas	7	8	10	8
Púberes	0	7	7	8
Total	7	15	17	16

P = Sólo Progestágeno.

PMSG = Acetato de Fluorogestona (AFG)/ 12 días + 400 UI de PMSG al Retirar Esponjas (RE).

ARG = AFG/ 12 días + 300 mg⁻¹ de L-arginina /3 días antes de RE.

ARGAP = AFG/ 12 días + 300 mg⁻¹ de L-arginina + 6 % aceite de pescado/3 días antes de RE.

AP = AFG/12 días al RE + 6 % de aceite de pescado/3 días antes de RE.

Las ovejas se mantuvieron en pastoreo de 8.00–15.00 h, en praderas de alfalfa (*Medicago sativa*) y Pasto Orchard (*Dactylis glomerata*), Al término del pastoreo, fueron alimentadas con una dieta para mantenimiento a base

de heno (1 kg oveja⁻¹ día⁻¹) y concentrado comercial con 15% de proteína cruda (500 g oveja⁻¹ día⁻¹).

4.3 Tratamientos

Las ovejas adultas y púberes se les asignó uno de 5 tratamientos (Cuadro 7): P = Progestágeno, PMSG = 40 mg de Acetato de Fluorogestona (AFG) por 12 días vía esponja intravaginal + 400 UI de gonadotropina sérica de yegua preñada (PMSG), ARG = 40 mg de AFG 12 días⁻¹ vía esponja intravaginal + 300 mg kg⁻¹ L-arginina por 3 días antes de retirar las esponjas, ARGAP = 40 mg de AFG 12 días⁻¹ vía esponja intravaginal + 300 mg kg⁻¹ L-arginina + 6% aceite de pescado en la ración y AP = 40 mg AFG 12 días⁻¹ + 6% aceite de pescado en la ración por 3 días. Excepto las ovejas del tratamiento P, los animales de los demás tratamientos fueron tratados con una dosis de 0.286 mg PGF^{2α} vía intramuscular al momento de colocarles las esponjas con 40 mg de AFG.

Cuadro 7. Suplementación y protocolo de sincronización realizado en las ovejas por tratamiento.

Tratamiento	P	PMSG	ARG	ARGAP	AP
500 g/día Concentrado más heno molido					
Suplementación	--	--	300 mg kg ⁻¹ L-arginina	300 mg kg ⁻¹ L-arginina	6% Aceite Pescado
Protocolo de sincronización	--	300 UI PMSG día 12	--	--	--

P = Sólo Progestágeno.

PMSG = Acetato de Fluorogestona (AFG)/ 12 días + 400 UI de PMSG al Retirar Esponjas (RE).

ARG = AFG/ 12 días + 300 mg⁻¹ de L-arginina/ 3 días antes de RE.

ARGAP = AFG/ 12 días + 300 mg⁻¹ de L-arginina + 6 % aceite de pescado/ 3 días antes de RE.

AP = AFG/ 12 días al RE + 6 % de aceite de pescado/ 3 días antes de RE.

4.4 Protocolo de sincronización

El inicio del experimento se consideró el día de la colocación de las esponjas (Figura 2). Las ovejas fueron tratadas con 40 mg de Acetato de Fluorogestona (AFG) (Cronolone-Chrono-Gest-Intervet®). El día 12 fueron retiradas las esponjas a todas las ovejas y únicamente las del tratamiento PMSG recibieron vía intramuscular 400 UI de Gonadotropina Sérica de Yegua Preñada (PMSG por sus siglas en inglés; Folligon-Intervet®).

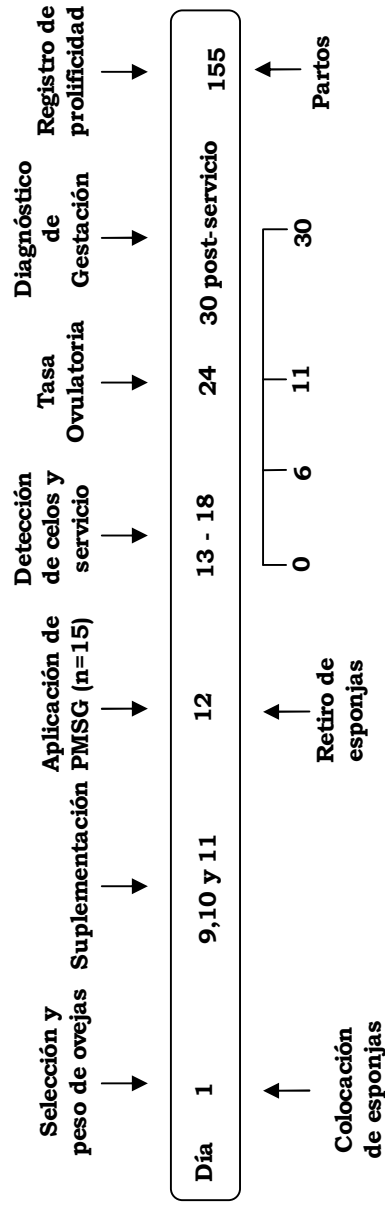


Figura 2. Protocolo de investigación

4.5 Preparación del alimento y suplementación

Todas las ovejas fueron alimentadas con 500 g oveja⁻¹ d⁻¹ de concentrado comercial con 15 % de proteína. De acuerdo al número de ovejas, la cantidad de concentrado utilizado para los tratamientos fue: P (3.5 kg); PMSG (7.5 kg); ARG (8.5 kg); ARGAP (8 kg) y AP (7.5 kg).

La cantidad de L-arginina administrada a las ovejas del tratamiento ARG fue calculada de acuerdo al contenido de L-arginina de Lupinus, la cual fue de 300 mg kg⁻¹. Se emplearon 205 g de L-arginina para las 17 ovejas, la

cual se adicionó al concentrado del día (8.5 kg) y mezcló en forma manual hasta homogenizar.

Para el tratamiento ARGAP: 185 g de L-arginina y 450 g de aceite de pescado fueron mezclados manualmente hasta homogenizar, posteriormente se mezcló con el concentrado (7.5 kg para 15 ovejas) hasta obtener un mezclado uniforme. El aceite de pescado (480 g) para el tratamiento AP fue mezclado manualmente con el alimento (8 kg para 16 ovejas).

Durante tres días previos al retiro de las esponjas intravaginales se realizó el periodo de suplementación (Figura 2), manteniendo las ovejas en estabulación agrupadas en corrales por tratamiento. El concentrado se preparó diariamente y se proporcionó a las 8.00 h en comederos lineales. Posteriormente a la alimentación de todos los animales con el concentrado consumieron heno de avena molido, aproximadamente 1 kg oveja⁻¹, con agua y sales minerales a libre acceso.

4.6 Características estudiadas

2.6.1 Tiempo de respuesta: Horas transcurridas del momento de retirar la esponja intravaginal a la presentación de estro.

2.6.2 Porcentaje de estros: Número de ovejas con manifestaciones externas de estro, detectadas por el semental, entre el número total de ovejas en el tratamiento.

Para el diagnóstico del estro se introdujo a los corrales un semental maduro provisto con un arnés protector de pene (mandil), realizando la detección por la mañana (7.00 - 8.00 h) y tarde (17.00 - 18.00 h). Se dieron

dos servicios, por monta natural, al momento de la detección del estro y 12 horas después.

4.6.3 Tasa ovulatoria: Total de cuerpos lúteos detectados por ultrasonografía en cada tratamiento entre el número de ovejas diagnosticadas.

4.6.4 Porcentaje de preñez: Número de ovejas diagnosticadas gestantes entre el número de ovejas servidas por los sementales del tratamiento.

4.6.5 Prolificidad: Numero de corderos nacidos entre el número de ovejas paridas dentro de cada tratamiento.

Para el diagnóstico de la tasa ovulatoria y el diagnóstico de gestación, se utilizó un ultrasonido Sonovet 500 con sonda para utilización vía rectal de 7.5 mHz (Figura 3).

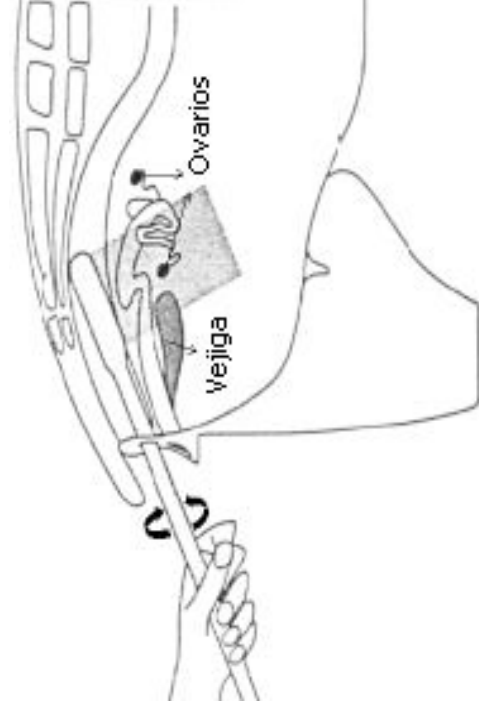


Figura 3. Método de ultrasonografía transrectal. Viñoles (2003).

4.7 Modelo estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar con 5 tratamientos. El análisis de los datos se realizó con los procedimientos GLM para la variable continua tiempo de respuesta; CATMOD y LOGISTIC para las variables de categóricas, del SAS versión 8.0 (SAS, 1999). La curva de probabilidad para tiempo de respuesta se realizó con el programa SPSS versión 11.5.0 con el procedimiento de Análisis de Supervivencia de Kaplan-Meier (SPSS, 2002). El modelo utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + E_j + (TE)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$
$$i = 1,2,3\dots t$$
$$j = 1,2,3\dots r$$
$$k = 1,2,3\dots e$$

Donde:

Y_{ijk} = Variable respuesta, tiempo de respuesta en j-ésima repetición, i-ésimo tratamiento, i-ésima etapa.
 μ = Media general
 T_i = Efecto del tratamiento i.
 E_k = Efecto de la etapa k.
 ε_{ijk} = Error experimental i-ésimo tratamiento en la j-ésima repetición de la k-ésima etapa.

$$\varepsilon_{ijk} = N(0, \delta^2)$$

V RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Tiempo de respuesta

El intervalo entre el retiro de la esponja intravaginal y el momento de la detección del estro se consideró como el tiempo de respuesta, encontrándose diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos (Cuadro 8).

Cuadro 8. Número de ovejas y su tiempo de respuesta a estro según tratamiento.

Tratamiento	Ovejas		Tiempo de Respuesta (h) M ± EE
	Total	En estro	
P	7	2	87.00 ± 11.00 ^c
PMSG	15	12	31.80 ± 2.86 ^a
ARG	17	10	59.70 ± 4.78 ^b
ARGAP	16	8	61.18 ± 4.34 ^b
AP	15	12	55.73 ± 6.66 ^b

^{a,b,c}Medias con distinta literal son diferentes ($p \leq 0.05$)

M ± EE = media ± error estándar.

P = Sólo Progestágeno.

PMSG = Acetato de Fluorogestona (AFG)/ 12 días + 400 UI de PMSG al Retirar Esponjas (RE).

ARG = AFG/ 12 días + 300 mg⁻¹ de L-arginina/ 3 días antes de RE.

ARGAP = AFG/ 12 días + 300 mg⁻¹ de L-arginina + 6 % aceite de pescado/ 3 días antes de RE.

AP = AFG/ 12 días al RE + 6 % de aceite de pescado/ 3 días antes de RE.

El menor tiempo de respuesta se obtuvo en las ovejas del tratamiento con PMSG siendo diferente ($p \leq 0.05$) a los tratamientos P, ARG y ARGAP, donde el tratamiento P fue diferente ($p \leq 0.05$) a todos los tratamientos con el mayor tiempo de respuesta.

Los tiempos de respuesta encontrados por otros autores no son similares. Para el tratamiento PMSG, Iida *et al.* (2004) utilizaron en época de anestro y con efecto macho, tres tipos de dispositivos intravaginales obteniendo diferencias en los tiempos de respuesta. Sin embargo, Kohno *et al.* (2005) no hallaron diferencias en ovejas tratadas con esponjas

impregnadas de progesterona y 500 UI vía intramuscular de Gonadotropina Coriónica Equina (eCG por sus siglas en inglés) 24 horas antes de retirar los dispositivos intravaginales.

Los resultados del presente trabajo son similares a los reportados por Barbas *et al.* (2002) al comparar diferentes dosis de gonadotropinas, utilizando 30 mg de acetato de fluorogestona más 250 UI o 500 UI de PMSG al momento de remover las esponjas. Al utilizar sólo la esponja impregnada con acetato de fluorogestona Kridli *et al.* (2006) reportaron similares tiempos de respuesta al estro (49.3 ± 3.1 h) diferentes ($p \leq 0.001$) al tratamiento testigo (suplementación) con 54.0 ± 6.5 h y con medroxiprogesterona más 500 UI de PMSG. Dogan y Nur (2006) reportaron un menor tiempo de respuesta al utilizar sólo el dispositivo intravaginal (diferente a la esponja con AFG) con medroxiprogesterona.

Las ovejas adultas del tratamiento PMSG presentaron comportamientos estral a las 33.29 ± 11.07 h (Cuadro 9). Estos valores son similares con los reportados por Salazar (2001) quien aplicó PMSG dos días antes de retirar las esponjas con AFG, con respuesta estral entre 37.25 ± 5.49 h. Resultados similares obtuvieron Kridli *et al.* (2006) aplicando la PMSG al momento de retirar el dispositivo (33.3 ± 3.1 h).

Cuadro 9. Número de ovejas adultas y púberes detectadas en estro y su tiempo de respuesta por tratamiento.

Tratamiento	n	Adultas		Púberes	
		M ± EE	(n)	M ± EE	(n)
P	7	87.00 ± 11.00 ^c	(2)	-	*
PMSG	15	33.3 ± 3.9 ^a	(8)	28.8 ± 3.7 ^d	(4)
ARG	17	59.7 ± 4.8 ^b	(10)	-	(0)
ARGAP	16	62.4 ± 4.8 ^b	(7)	52.7 ± 00.00 ^e	(1)
AP	15	57.8 ± 6.5 ^b	(10)	45.50 ± 30.5 ^e	(2)

^{a,b,c} Medias con distinta literal son (p<0.05).

^{d,e} Medias con distinta literal son (p<0.05).

* No incluyó ovejas púberes,

P = Sólo Progestágeno.

PMSG = Acetato de Fluorogestona (AFG)/ 12 días + 400 UI de PMSG al Retirar Esponjas (RE).

ARG = AFG/ 12 días + 300 mg⁻¹ de L-arginina /3 días antes de RE.

ARGAP = AFG/ 12 días + 300 mg⁻¹ de L-arginina + 6 % aceite de pescado/3 días antes de RE.

AP = AFG/ 12 días al RE + 6 % de aceite de pescado/3 días antes de RE.

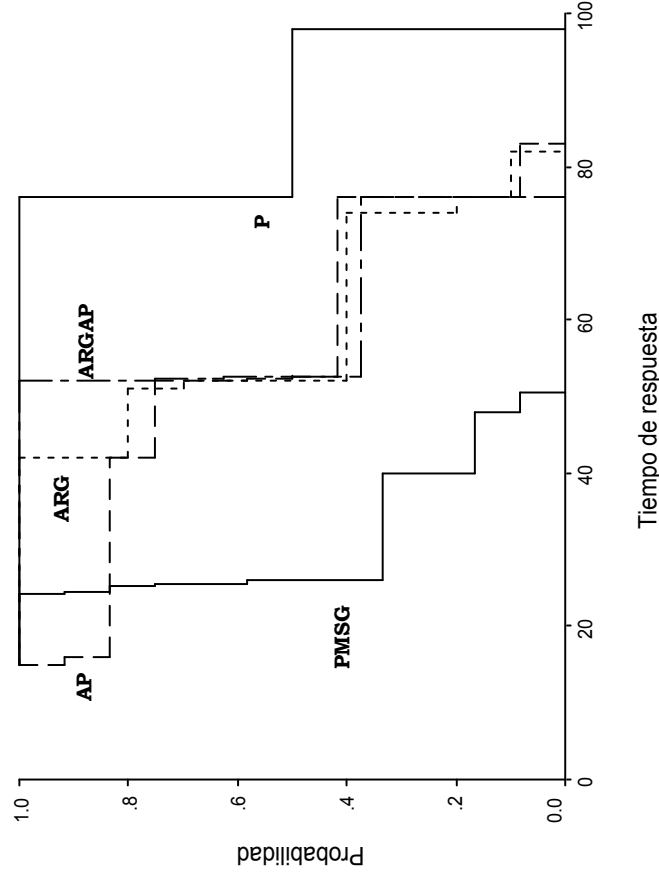
Existen diversos factores que pueden influir en el inicio del estro o el tiempo de respuesta después de un tratamiento de sincronización, entre ellos está el coeficiente de absorción de progesterona por el epitelio vaginal, desde el momento de la inserción al retiro del dispositivo o la esponja y la dosis aplicada de gonadotropina coriónica equina (eCG; Rhodes *et al.*, 1998; Iida *et al.*, 2004; Kohno *et al.*, 2005).

El tipo y dosis de hormonas utilizadas y la nutrición influyen en el tiempo de respuesta, sin embargo, para el caso de las ovejas adultas en contraste con las prepúberes, son marcadamente resistentes a la restricción alimenticia. El fotoperíodo, los eventos estresantes y la interacción social influyen en el comportamiento reproductivo de las ovejas (Goodman e Inskip, 2006).

Las diferencias en respuesta al estro y la fertilidad con los tratamientos de sincronización con esponjas pueden variar debido a la especie (cabras, ovejas), raza, co-tratamientos, manejo y sistema de empadre (Wildeus, 1999).

También existen marcadas diferencias genéticas en la tasa ovulatoria asociada a las concentraciones observadas de FSH pero es una característica inconsistente entre razas (Webb *et al.*, 1998).

La probabilidad de respuesta al estro disminuye al incrementar el tiempo posterior al retiro de la esponja. La probabilidad de que las ovejas tratadas con acetato de fluorogestona y suplementadas con L-arginina o aceite de pescado, presenten estro dentro de los primeros tres días es de aproximadamente 0.80, semejante al tratamiento comercial con esponjas vaginales impregnadas de acetato de fluorogestona y 400 UI de gonadotropinas (PMSG; Figura 4).



P = Sólo Progestágeno.
PMSG = Acetato de Fluorogestona (AFG)/12 días + 400 UI de PMSG al Retirar Esponjas (RE).
ARG = AFG/12 días + 300 mg⁻¹ de L-arginina/3 días antes de RE.
ARGAP = AFG/12 días + 300 mg⁻¹ de L-arginina + 6 % aceite de pescado/3 días antes de RE.
AP = AFG/12 días al RE + 6 % de aceite de pescado/3 días antes de RE.

Figura 4. Curva de tiempo de respuesta por tratamiento.

Las frecuencias de estro por periodos de diagnóstico se presentan en el Cuadro 10. Con el tratamiento PMSG el 53 % (8/15) de las ovejas mostraron estro entre 24–35 h, 27 % (4/15) entre 36-48 h y 20 % (3/15) no presentaron celo. Para el tratamiento ARG el 35 % (6/17) presentaron celo entre 36-48 h, 24 % (4/17) entre 49-72 h y el 41 % (7/17) no exhibieron síntomas de estro. Con el tratamiento ARGAP el 50 % (8/16) presentaron estro entre 48-72 h, el 50 % no respondió. Con el tratamiento AP el 13 % (2/15) presentaron estro en el primer periodo de diagnóstico (12 h), 6 % (1/15) a las 36 h, el 60 % (9/15) manifestaron estro entre 48-72 h y el 20 % no manifestó. Córdoba *et al.*, (1999) al utilizar AFG 30 mg/14 días mas 460 UI PMSG al retirar esponjas observaron (n=23) 25 % de ovejas en celo entre 0-24 h, 20.8 % entre 25-48, 50 % entre 49-72 h y el resto no exhibió estro.

Cuadro 10. Número de ovejas en estro de acuerdo al tiempo de diagnóstico y porcentaje total de estros por tratamiento.

Tratamiento	Horas posterior al retiro de la esponja					Total (%)
	12	24	36	48	72	
P	0	0	0	0	1	1 2/ 7 (28.6) ^a
PMSG	0	8	2	2	0	12/15 (80.0) ^b
ARG	0	0	2	4	4	10/17 (59.0) ^c
ARGAP	0	0	0	5	3	8/16 (50.0) ^c
AP	2	0	1	4	5	12/15 (80.0) ^b

^{a,b,c}Medias con distinta son diferentes (p<0.05)

P = Sólo Progestágeno.

PMSG = Acetato de Fluorogestona (AFG)/ 12 días + 400 UI de PMSG al Retirar Esponjas (RE).

ARG = AFG/ 12 días + 300 mg⁻¹ de L-arginina/3 días antes de RE.

ARGAP = AFG/ 12 días + 300 mg⁻¹ de L-arginina + 6 % aceite de pescado/3 días antes de RE.

AP = AFG/12 días al RE + 6 % de aceite de pescado/3 días antes de RE.

El porcentaje de ovejas con manifestaciones de estro a intervalos de 12 h posterior al retiro de las esponjas, obtenido con el tratamiento PMSG es diferente a los reportados por Ataman *et al.* (2006) quienes observaron 44.5 ± 1.8 h utilizando 30 mg 7 días⁻¹ de AFG y 46.3 ± 1.8 h con 30 mg 12 días⁻¹ de AFG y un análogo de PGF_{2α} (prostaglandinas) al momento de retirar las

esponjas, logrando un 100 % de ovejas en estro y una tasa de gestación del 86.6 y 76.9%, respectivamente. El uso de análogos de PGF_{2α} permite obtener mas del 90 % de manifestaciones de estro pero la fertilidad al primer servicio es menor (González-Bulnes *et al.*, 2005).

5.2 Porcentaje de estros

Se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) para el porcentaje de estros de las ovejas entre tratamientos (Cuadro 11), el porcentaje más alto de incidencia de estros se presentó en las ovejas de los tratamientos con PMSG y AP (80 %) y con las ovejas de los tratamientos ARG y ARGAP, los resultados fueron menores. Las hembras del tratamiento P mostraron el menor porcentaje, posiblemente por tratarse de ovejas que respondieron al efecto de la interacción social.

Cuadro 11. Número de ovejas y porcentaje de estros detectados por tratamiento.

Tratamiento	Numero Ovejas	Respuesta	
		Porcentaje de estro M ± EE (n)	No Estro % (n)
P	7	28.6 ± 18.0 (2) ^a	71.4 (5)
PMSG	15	80.0 ± 11.0 (12) ^c	20.0 (3)
ARG	17	58.8 ± 12.0 (10) ^b	41.2 (7)
ARGAP	16	50.0 ± 13.0 (8) ^b	50.0 (8)
AP	15	80.0 ± 11.0 (12) ^c	20.0 (3)

^{a,b,c}Medias con distinta literal son diferentes ($p < 0.05$)

P = Sólo Progestágeno.

PMSG = Acetato de Fluorogestona (AFG)/ 12 días + 400 UI de PMSG al Retirar Esponjas (RE).

ARG = AFG/ 12 días + 300 mg⁻¹ de L-arginina/ 3 días antes de RE.

ARGAP = AFG/ 12 días + 300 mg⁻¹ de L-arginina + 6 % aceite de pescado/3 días antes de RE.

AP = AFG/ 12 días al RE + 6 % de aceite de pescado/3 días antes de RE.

El número de ovejas en celo al utilizar un tratamiento farmacológico para la sincronización del ciclo estral refleja la eficacia parcial de este, sin considerar las interacciones fisiológicas, metabólicas y nutricionales. El uso de AFG combinado con suplementación de L-arginina y aceite de pescado parece no ser un método eficiente para la inducción de estros por las diferencias con respecto al tratamiento AFG más PMSG. Sin embargo, se debe considerar que las ovejas tratadas reiteradamente con PMSG, pueden llegar a tornarse inmunoreactivas disminuyendo la eficiencia de la dosis del fármaco.

Los porcentajes de estro entre tratamientos del presente trabajo son en general bajos, sin considerar la respuesta de las ovejas adultas. Diferen de los reportados por Ataman *et al.* (2006) quienes registraron 100 % de estros en ovejas en época reproductiva tratadas con 30 mg de acetato de fluorogestona por 7 y 12 días más PMSG y PGF²α al momento de remover las esponjas. Las PGF²α aplicadas al momento de retirar las esponjas provocan luteolisis y en consecuencia una disminución en los niveles plasmáticos de progesterona.

Uno de los factores intrínsecos que influye en el porcentaje de estros obtenido por manipulación del ciclo estral, es la madures sexual de las ovejas tratadas. Las ovejas prepúberes pueden responder a tratamientos con gonadotropinas mejor a las 14 semanas de edad que a las 10 semanas, sin embargo, el índice de ovulación es siempre inferior que en ovejas adultas (López-Sebastián *et al.*, 2001).

Se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en el porcentaje de estros entre ovejas adultas (Cuadro 12). Con los tratamientos PMSG, ARG y AP en ovejas adultas el PE fue superior con respecto a los tratamientos P y ARGAP. El PE entre ovejas púberes de los tratamientos PMSG y AP fue

superior ($p \leq 0.05$) a los observados en ovejas de la misma etapa de los tratamientos ARG y ARGAP.

Cuadro 12. Número y porcentaje de ovejas adultas y púberes detectadas en estro por tratamiento.

Tratamiento	Etapa	Número de Ovejas	Respuesta	
			Porcentaje de estro M \pm EE (n)	No estro % (n)
P		7	28.6 \pm 18.4 (2) ^a	71.4 (5)
PMSG		8	100.0 \pm 0.0 (8) ^c	0
ARG	Adultas	10	100.0 \pm 0.0 (10) ^c	0
ARGAP		8	87.5 \pm 12.5 (7) ^b	12.5 (1)
AP		11	90.9 \pm 9.0 (10) ^c	9.1 (1)
PMSG		7	57.1 \pm 20.2 (4) ^e	42.9 (3)
ARG	Púberes	7	(0)	100.0 (7)
ARGAP		8	12.5 \pm 0.0 (1) ^d	87.5 (7)
AP		4	50.0 \pm 29.0 (2) ^e	50.0 (2)

^{a,b,c} Medias con distinta literal son diferentes ($p < 0.05$)

^{d,e} Medias con distinta literal son diferentes ($p < 0.05$)

P = Sólo Progestágeno.

PMSG = Acetato de Fluorogestona (AFG)/12 días + 400 UI de PMSG al Retirar Esponjas (RE).

ARG = AFG/12 días + 300 mg⁻¹ de L-arginina/3 días antes de RE.

ARGAP = AFG/12 días + 300 mg⁻¹ de L-arginina + 6 % aceite de pescado/3 días antes de RE.

AP = AFG/12 días al RE + 6 % de aceite de pescado/3 días antes de RE.

5.3 Tasa Ovulatoria

Se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) para tasa ovulatoria (TO) en las ovejas del tratamiento ARGAP con respecto a las ovejas de los otros tratamientos. (Cuadro 13).

Cuadro 13. Número de ovejas de acuerdo a la cantidad de cuerpos lúteos detectados por ultrasonografía y tasa ovulatoria por tratamiento.

Tratamiento	Número de Ovejas	Número de cuerpos lúteos			Tasa Ovulatoria M ± EE
		Cero % (n)	Uno % (n)	Dos % (n)	
P	7	28.6 (2)	42.9 (3)	28.6 (2)	1.40 ± 0.25 ^a
PMSG	15	13.3 (2)	46.7 (7)	40.0 (6)	1.46 ± 0.14 ^a
ARG	17	11.8 (2)	47.1 (8)	41.2 (7)	1.47 ± 0.13 ^a
ARGAP	16	12.5 (2)	31.3 (5)	56.3 (9)	1.64 ± 0.50 ^b
AP	15	6.7 (1)	46.7 (7)	46.7 (7)	1.43 ± 0.14 ^a

Medias con distinta literal son diferentes ($p < 0.05$)

M ± EE = media ± error estándar.

P = Sólo Progéstano.

PMSG = Acetato de Fluorogestona (AFG)/ 12 días + 400 UI de PMSG al Retirar Esponjas (RE).

ARG = AFG/ 12 días + 300 mg⁻¹ de L-arginina/3 días antes de RE.

ARGAP = AFG/ 12 días + 300 mg⁻¹ de L-arginina + 6 % aceite de pescado/3 días antes de RE.

AP = AFG/12 días al RE + 6 % de aceite de pescado/3 días antes de RE.

La tasa ovulatoria para ovejas adultas fue diferente ($p \leq 0.05$) entre tratamientos (Cuadro 14). Las ovejas de los tratamientos ARG, ARGAP y AP no mostraron diferencias en TO, los cuales fueron diferentes ($p \leq 0.05$) con respecto a las ovejas adultas de PMSG y al tratamiento P. La tasa ovulatoria para ovejas adultas es similar a la obtenida por Kosior-Korzecka y Bobowiec (2003) con ovejas suplementadas con Lupinus (1.69 ± 0.46) comparadas con ovejas alimentadas sólo con heno (1.29 ± 0.45).

La tasa ovulatoria entre ovejas púberes fue diferente ($p \leq 0.05$) entre tratamientos (Cuadro 14). No se hallaron diferencias en la tasa ovulatoria de

las ovejas púberes de los tratamientos PMSG y ARGAP y una tasa ovulatoria inferior presentaron las ovejas púberes de los tratamientos ARG y AP. Es de considerar que la subnutrición en ovejas 6 meses antes de la monta reduce el número de folículos ovulatorios (Robinson *et al.*, 2006).

Cuadro 14. Número de ovejas adultas y púberes de acuerdo al número de cuerpos lúteos detectados por ultrasonografía y tasa ovulatoria por tratamiento y etapa.

Tratamiento	Etapa	Número de Ovejas	Número de cuerpos lúteos			Tasa Ovulatoria M ± EE
			Cero % (n)	Uno % (n)	Dos % (n)	
P*		7	28.6 (2)	42.9 (3)	28.6 (2)	1.40 ± 0.25 ^a
PMSG		8	0.0	50.0 (4)	50.0 (4)	1.50 ± 0.19 ^a
ARG	Adultas	10	0.0	30.0 (3)	70.0 (7)	1.70 ± 0.13 ^b
ARGAP		8	0.0	12.5 (1)	87.5 (7)	1.87 ± 0.13 ^b
AP		11	0.0	36.4 (4)	63.6 (7)	1.63 ± 0.16 ^b
PMSG		7	28.6 (2)	42.9 (3)	28.6 (2)	1.40 ± 0.25 ^d
ARG	Púberes	7	28.6 (2)	71.4 (5)	0.0	1.00 ± 0.00 ^c
ARGAP		8	25.0 (2)	50.0 (4)	25.0 (2)	1.33 ± 0.21 ^d
AP		4	25.0 (1)	75.0 (3)	0.0	1.00 ± 0.00 ^c

* Tratamiento P sin ovejas púberes.

^{a,b}Medias con distinta literal son diferentes (p≤0.05)

^{c,d}Medias con distinta literal son diferentes (p≤0.05)

M ± EE = media ± error estándar.

P = Sólo Progestágeno.

PMSG = Acetato de Fluorogestona (AFG)/12 días + 400 UI de PMSG al Retirar Esponjas (RE).

ARG = AFG/12 días + 300 mg⁻¹ de L-arginina/3 días antes de RE.

ARGAP = AFG/12 días + 300 mg⁻¹ de L-arginina + 6 % aceite de pescado/3 días antes de RE.

AP = AFG/12 días al RE + 6 % de aceite de pescado/3 días antes de RE.

El número de cuerpos lúteos localizados por ultrasonografía entre los día 8 a 11 después de la presentación del estro puede utilizarse para inferir la prolificidad particular de las ovejas y ser un indicador general de la prolificidad del rebaño (Viñoles, 2003). La utilización de gonadotropinas como la PMSG estimula el crecimiento folicular e incrementa la tasa ovulatoria, fertilidad y la sincronización de la ovulación en ovejas ciclando y en anestro (Maurel *et al.*, 2003).

La suplementación en ovejas con el objetivo de hacer más eficiente su comportamiento reproductivo ha sido de interés por el impacto que ejerce la nutrición sobre la fisiología reproductiva. Por ejemplo, la suplementación con grano de Lupinus durante los últimos cuatro días puede inducir un aumento del 20-30 % en la frecuencia de ovulaciones múltiples (Stewart y Oldham, 1986). Herrera *et al.*, (2003) reportaron que la población media de folículos fue mayor en las ovejas suplementadas con aceite de maíz que aquellas que no recibieron dicha suplementación (11.28 ± 1.12 *vs* 8.80 ± 0.93).

Una comparación de tratamientos con esponjas intravaginales conteniendo 15, 30, 45 y 60 mg de MAP utilizadas durante la estación reproductiva en ovejas de lana, demostró que no hay diferencias en la tasa ovulatoria con una media de 1.25 cuerpos luteos por oveja (Iglesias *et al.*, 1997)

5.4 Porcentaje de gestación

Se hallaron diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos para gestación (Cuadro 15). El mayor porcentaje de gestación se obtuvo con los tratamientos PMSG y AP, los cuales fueron diferentes ($p \leq 0.05$) con respecto a los tratamientos ARG y ARGAP y el porcentaje menor se obtuvo en el tratamiento sólo con progesterona.

Cuadro 15. Número de ovejas y porcentaje de gestación según tratamiento.

Tratamiento	Número de ovejas	Diagnóstico Gestación	
		Porcentaje de gestación M ± EE (n)	No % (n)
P	7	28.6 ± 18.0 (2) ^a	71.4 (5)
PMSG	15	73.3 ± 12.0 (11) ^c	26.7 (4)
ARG	17	47.1 ± 13.0 (7) ^b	52.9 (10)
ARGAP	16	43.8 ± 13.0 (7) ^b	56.3 (9)
AP	15	73.3 ± 12.0 (11) ^c	26.7 (4)

Medias con distinta literal son diferentes (p<0.05)

P = Sólo Progestágeno.

PMSG = Acetato de Fluorogestona (AFG)/12 días + 400 UI de PMSG al Retirar Esponjas (RE).

ARG = AFG/12 días + 300 mg⁻¹ de L-arginina/3 días antes de RE.

ARGAP = AFG/12 días + 300 mg⁻¹ de L-arginina + 6 % aceite de pescado/3 días antes de RE.

AP = AFG/12 días al RE + 6 % de aceite de pescado/3 días antes de RE.

El porcentaje de gestación obtenido con los tratamientos PMSG y AP son similares a los encontrados por Dogan y Nur (2006) utilizando medroxiprogesterona por 12 días (MAP por sus siglas en ingles), 500 UI de PMSG mas 125 µg de PGF_{2α} al momento de retirar los dispositivos intravaginales, obteniendo 76.5 % y sólo con MAP 44.4 %. Sin embargo, estos resultados son inferiores a los encontrados por Ataman *et al.* (2006) quienes reportaron 86.6 % de ovejas gestantes para dos tipos de tratamientos (largo y corto con progestágenos), en la estación reproductiva, utilizando 30 mg día⁻¹ durante 12 y 7 días de AFG más 0.294 mg de un análogo de PGF_{2α} y 400 UI de PMSG ambos al momento de remover los dispositivos.

El número de ovejas gestantes del total de ovejas expuesta a empadre, refleja la fertilidad general del rebaño y la eficiencia de las técnicas de reproducción, sea por monta natural o inseminación artificial. Una mejor eficiencia reproductiva se logra con un diagnóstico de gestación temprano, al

reducir el intervalo entre partos y favorecer el manejo de las ovejas por lotes similares (López-Sebastián *et al.*, 2005).

El porcentaje de gestación en ovejas adultas entre tratamientos fue significativamente ($p \leq 0.05$) diferente (Cuadro 16), el 100 % de las ovejas adultas del tratamiento PMSG resultó gestante, un porcentaje similar se obtuvo con el tratamiento AP con el 90.9 % y porcentajes menores con ARG, ARGAP y P.

Cuadro 16. Número y porcentaje de gestación de ovejas adultas y púberes según tratamiento.

Tratamiento	Etapa	Número de Ovejas	Diagnóstico Gestación	
			Porcentaje de gestación M ± EE (n)	No % (n)
P		7	28.6 ± 18.4 (2) ^a	71.4 (5)
PMSG		8	100.0 ± 0.0 (8) ^c	(0)
ARG	Adultas	10	70.0 ± 15.3 (7) ^b	30.0 (3)
ARGAP		8	87.5 ± 12.5 (7) ^b	12.5 (1)
AP		11	90.9 ± 9.0 (10) ^c	9.1 (1)
PMSG		7	42.9 ± 20.2 (3) ^e	57.1 (4)
ARG	Púberes	7	(0)	100.0 (7)
ARGAP		8	(0)	100.0 (8)
AP		4	25.0 ± 25.0 (1) ^d	75.0 (3)

^{a,b,c}Medias con distinta literal son diferentes ($p < 0.05$)

^{d,e}Medias con distinta literal son diferentes ($p < 0.05$)

P = Sólo Progestágeno.

PMSG = Acetato de Fluorogestona (AFG)/ 12 días + 400 UI de PMSG al Retirar Esponjas (RE).

ARG = AFG/ 12 días + 300 mg⁻¹ de L-arginina/ 3 días antes de RE.

ARGAP = AFG/ 12 días + 300 mg⁻¹ de L-arginina + 6 % aceite de pescado/ 3 días antes de RE.

AP = AFG/ 12 días al RE + 6 % de aceite de pescado/ 3 días antes de RE.

5.5 Prolificidad

La prolificidad entre tratamientos fue diferente ($p \leq 0.05$; Cuadro 17) presentando un intervalo entre 1.14 - 1.63 corderos por oveja. No se encontraron diferencias entre PMSG y AP, ambos con 1.36. Las ovejas de los tratamientos P y ARG presentaron la mayor prolificidad ($p \leq 0.05$). Estos resultados difieren de los reportados por Ataman *et al.* (2006) para la estación reproductiva (1.7 - 1.8) y época de anestro (1.5) utilizando acetato de fluorogestona por 7 y 12 d y 400 UI PMSG mas 0.294 mg de un análogo de prostaglandinas. Resultados similares fueron obtenidos por Kridli *et al.* (2006) quienes utilizando AFG + 600 UI de PMSG al momento de remover las esponjas obtuvieron una prolificidad de 1.4 ± 0.3 de corderos nacidos por oveja parida. Sin embargo, los datos reportados por Barbas *et al.* (2002) al utilizar en ovejas adultas tratadas con 40 mg AFG más 250 y 500 UI de PMSG al momento de retirar las esponjas obtuvieron 1.44 de prolificidad para ambos tratamientos, la cual se encuentra dentro del intervalo de prolificidad hallado en el presente trabajo con y sin la utilización PMSG.

Cuadro 17. Número de ovejas gestantes y prolificidad según tratamiento.

Tratamiento	Número de Ovejas	Número de corderos		Prolificidad M \pm EE
		Uno % (n)	Dos % (n)	
P	2	50.0 (1)	50.0 (1)	1.50 \pm 0.50 ^c
PMSG	11	63.6 (7)	36.4 (4)	1.36 \pm 0.15 ^b
ARG	8	37.5 (3)	62.5 (5)	1.63 \pm 0.18 ^c
ARGAP	7	85.7 (6)	14.3 (1)	1.14 \pm 0.14 ^a
AP	11	60.0 (6)	40.0 (4)	1.36 \pm 0.15 ^b

Medias con distinta literal son diferentes ($p < 0.05$)

P = Sólo Progestágeno.

PMSG = Acetato de Fluorogestona (AFG)/ 12 días + 400 UI de PMSG al Retirar Esponjas (RE).

ARG = AFG/ 12 días + 300 mg⁻¹ de L-arginina/ 3 días antes de RE.

ARGAP = AFG/ 12 días + 300 mg⁻¹ de L-arginina + 6 % aceite de pescado/3 días antes de RE.

AP = AFG/ 12 días al RE + 6 % de aceite de pescado/3 días antes de RE.

La prolificidad es el promedio de corderos nacidos por oveja, y depende de la eficiencia en el manejo nutricional, sanitario, estación del año, edad, raza, eficiencia reproductiva del rebaño y de la absorción o muerte embrionaria. La oveja pelibuey presenta una prolificidad entre 1.4 y 1.3 corderos (González-Reyna *et al.*, 1991), sin embargo, hay reportes donde la prolificidad varía entre 1.2 a 1.5 (Valencia, 1985), aunque se puede considerar un valor promedio de 1.4 corderos nacidos por oveja (Galina *et al.*, 1992) y en regiones con clima cálido 1.5 corderos (Galina *et al.*, 1996).

La prolificidad para ovejas adultas fue diferente entre tratamientos ($p \leq 0.05$; Cuadro 18). La prolificidad más elevada para ovejas adultas se obtuvo con el tratamiento ARG, resultando menor en los tratamientos P, PMSG, ARGAP y AP. La prolificidad en ovejas púberes es similar a la reportada por Segura *et al.* (1996) quien registró una prolificidad de 1.14 corderos por oveja con peso medio menor a 24.3 kg.

Cuadro 18. Número de ovejas gestantes por etapa y prolificidad según tratamiento.

Tratamiento	Etapa	Número de Ovejas	Número de corderos		Prolificidad M ± EE
			Uno % (n)	Dos % (n)	
P		2	50.0 (1)	50.0 (1)	1.50 ± 0.50 ^b
PMSG		8	62.5 (5)	37.5 (3)	1.37 ± 0.18 ^c
ARG	Adultas	7	28.6 (2)	71.4 (5)	1.71 ± 0.18 ^d
ARGAP		7	85.7 (6)	14.3 (1)	1.14 ± 0.14 ^a
AP		10	55.6 (5)	44.4 (4)	1.40 ± 0.16 ^c
PMSG		3	66.7 (2)	33.3 (1)	1.33 ± 0.33 ^f
ARG	Púberes	1	100.0 (1)	(0)	1.00 ± 0.00 ^e
ARGAP		0	(0)	(0)	-
AP		1	100.0 (1)	(0)	1.00 ± 0.00 ^e

^{a,b,c,d}Medias con distinta literal son diferentes (p≤0.05)

^{e,f}Medias con distinta literal son diferentes (p≤0.05)

P = Sólo Progestágeno.

PMSG = Acetato de Fluorogestona (AFG)/ 12 días + 400 UI de PMSG al Retirar Esponjas (RE).

ARG = AFG/ 12 días + 300 mg⁻¹ de L-arginina/ 3 días antes de RE.

ARGAP = AFG/ 12 días + 300 mg⁻¹ de L-arginina + 6 % aceite de pescado/3 días antes de RE.

AP = AFG/ 12 días al RE + 6 % de aceite de pescado/ 3 días antes de RE.

VI CONCLUSIONES

El tiempo de respuesta en los tratamientos sin gonadotropina sérica de yegua preñada (PMSG) fue mayor posiblemente por un lento desarrollo folicular.

El aminoácido L-arginina y aceite de pescado incrementaron la tasa ovulatoria y prolificidad en ovejas adultas, contrariamente en ovejas púberes. La tasa ovulatoria registrada en ovejas adultas concuerda con la prolificidad obtenida, sin embargo los tiempos de respuesta, el porcentaje de estros y el porcentaje de gestación fueron menores a las ovejas tratadas con PMSG.

El aminoácido L-arginina como sustrato indispensable para la producción de óxido nítrico pudo haber estimulado la producción de gonadotropinas, incrementar el flujo sanguíneo y el desarrollo folicular.

El aceite de pescado además de ser una fuente de energía, también pudo retrasar la luteolisis por la disminución en la producción de prostaglandinas o interferir en su transporte plasmático retrogrado del útero al ovario.

El comportamiento reproductivo fue afectado por la suplementación de L-arginina o aceite de pescado y su interacción. Es posible la utilización de estos suplementos en un programa de nutrición estratégica para disminuir el consumo de sustancias hormonales.

LITERATURA CONSULTADA

- Acosta J., T. 2007. Studies of follicular vascularity associated with follicle selection and ovulation in cattle. *Journal of Reproduction and Development*. 53:39-44.
- Alderton K., W., E. C. Cooper, and G. R. Knowles. 2001. Nitric oxide synthetases: structure, function and inhibition. *Biochemistry. Journal*. 357: 593-615.
- Ataman M., B., M. Aköz, and O. Akman. 2006. Induction of synchronized oestrus in akkaraman cross-bred ewes during breeding and anestrus seasons: the use of short-term and long-term progesterone treatments. *Review. Medical Veterinary*. 157. 5: 257-260.
- Arroyo L., J., J. Gallegos S., A. Villa G, y J. Valencia M. 2006. Sistemas neurales de retroalimentación durante el ciclo reproductivo anual de la oveja: Una revisión. *Interciencia*. Vol. 31. Nº 1.
- Aoyama M., T. Takeuchi, Y. Mori, and H. Okamura. 1998. Nitric oxide in the ventromedial of the hypothalamus mediates actions of estrogen on goats and ingestive behavior. *Journal of Reproduction and Development*. 44:149-159.
- Barbas J., C. Baptista, R. Mascarenhas, A. E. M. Horta. 2002. Effect of two doses of eCG on fertility, prolificacy and fecundity in Serra da Estrela ewes subjected to double artificial insemination. *Revista Portuguesa de Zootecnia*, 2: 13-26.
- Beam S, W., D. W. Holcombe. 1992. Effects of insulin administration during follicular growth on serum glucose and hormone profiles in ewe-lambs. *Canadian Journal Animal Sciences*. 72: 421-426.
- Brann D. W., G. K. Bhat, C. A. Lamar, and V. B. Mahesh. 1997. Gaseous transmitters and neuroendocrine regulation. *Neuroendocrinology* 65: 385-395.
- Calder P. C. 1998. Fat chance of immunomodulation. *Trends: Immunology Today* 19(6): 244-247.
- Castillo H., J. Hernández L. M. Berruecos J. y J. López A., 1977. Comportamiento reproductivo del borrego Tabasco mantenido en clima tropical. III Pubertad y duración del estro. *Técnica Pecuaria. México*. 20: 52-56.
- Córdoba I. A. G., L. G. Ruiz., J. O. Saltijeral., G. J. F. Pérez., D. T. Degefa. 1999. Inducción y sincronización de celos en ovejas criollas an éstricas

estacionales con esponjas vaginales impregnadas de FGA y PMSG inyectable. Archivos. Zootecnia. 48: 437-440.

- Dhandapani K. M., and D. Brann W. 2000. The role of glutamate and nitric oxide in the reproductive neuroendocrine system. (Abstract) Biochemistry Cell Biology. 78 (3): 165-79.
- Dogan I., and Z. Nur. 2006. Different estrous induction methods during the non-breeding season in Kirvircik ewes. Veterinari Medicina, 51 (4): 133-138.
- Downing J. A., and J. R. Scaramuzzi. 1991. Nutrient effects on ovulation rate, ovarian function and the secretion of gonadotrophic and metab olic hormones in sheep. Journal Reproduction and Fertility. Supplement. 43: 209-227.
- FAO 2004. Vol.1/1. [http://www.fao.org/statistics/Anuario estadístico de la FAO 2004 Vol_1-1.htm](http://www.fao.org/statistics/Anuario_estadistico_de_la_FAO_2004_Vol_1-1.htm)
- FAO 2006. Animal Feed Resources Information System (AFRIS). www.fao.org/waicent/faoinfo/agricult/aga/agap/frg/afris/Data/314.htm
- Fitzhugh H. A., and G.E. Bradford. 1983. Productivity of hair sheep and opportunities for improvement. In: Hair sheep of western Africa and the Americas. A genetic resource for the tropics. Winrock International. Boulder Colorado. USA. pp 4-23.
- Fowden A. L. 1980. Effects of arginine and glucose on the release of insulin in the sheep fetus. Journal of Endocrinology. 85: 121-129.
- Galina M., A., E. Silva, M. Guerrero y A. Aguilar. 1992. Comportamiento reproductivo del borrego Tabasco y Blackbelly bajo pastoreo diurno en el trópico seco mexicano en Colima. Avances de Investigación Agropecuaria 15: 118-129.
- Galina M., A., R. Morales, E. Silva and B. López. 1996. Reproductive performance of hair sheep pelibuey and blackbelly under Mexican tropical management. Small Ruminant Research. 22: 31-38.
- García, E. 1988. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Ed. E. García. México. 194 p.
- Gibson T. C., T. M. Phernetton, M. C. Wiltbank and R. R. Magness. 2004. Development and use of an ovarian synchronization model to study the effects of endogenous estrogen and nitric oxide on uterine blood flow during ovarian cycles in sheep. Biology of Reproduction 70: 1886-1894.

- Grimble I. R. F. 1998. Modulation of inflammatory aspects of immune function by nutrients. *Nutrition Research*. 18(7): 1297-1317.
- González-Bulnes A., A. López-Sebatian, M. R. Santiago, L. A. Veiga, D. A. Toledano, y I. Contreras. 2005. II. Métodos alternativos en biotecnologías reproductivas en ovinos y caprinos. *In: Memorias del IV Curso Internacional de Reproducción en Rumiantes*. Septiembre. Colegio de Postgraduados. Texcoco, Edo de México. Pp 17-28.
- González P., E. 2003. Pubertad en bovinos: Búsqueda de factores que la regulan. *In: Memorias del III Curso Internacional de Fisiología de la Reproducción en Rumiantes*. Memorias. Colegio de Postgraduados. Texcoco, Edo de México. pp: 41-54.
- Gonzales-Reyna A., M. J. Valencia, W. C. Foote and B. D. Murphy. 1991. Hair sheep in México. *Reproduction in the Pelibuey sheep*. *Animal Breeding Abstract* 59: 509-521.
- Goodman, R. L., and E. K. Inskeep. 2006. Neuroendocrine control of the ovarian cycle of the sheep. *In*. Knobil and Neill's *Physiology of Reproduction*. Edited by Jimmy D. Neill. Elsevier. pp 2389-2447.
- Hafez, E.S.E. 1998. Reproducción e inseminación artificial en animales. 4^a Ed. Interamericana. México, D.F. 599 p.
- Hafez E.S.E., and B. Hafez. 2003. *Reproduction in farm animals*. Seventh Edition. Lippicott William and Wilkins. 509 p.
- Hamra, A., F. M., A. Al-Dabas and F. T. Awawdeh. 2003. Effect of arginine supplementation on puberty and some reproductive traits in female Awassi Sheep.
- Hernández P., J. E., y F. F. Reyes. 1999. Reproducción de siete especies domésticas. Universidad Autónoma Metropolitana, Xochimilco. UAM-X. México, D.F. 355 p.
- Herrera, C. J. F. J. A. Quintal, V. J. C. Kú, y G. L. Williams. 2003. Efecto de la adición de ácidos grasos poliinsaturados sobre la dinámica folicular, tasa de gestación y respuesta ovárica en ovejas pelibuey. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 2: 101-104.
- Hinch, G. N., and J. H. W. Roelofs. 1986. Lupin feeding and insulin infusion during late luteal phase can increase ovulation rate in sheep. *Proceedings Australian Society Reproduction*. Biology. 18(42) (abstract).

- Hoffman, D. R., E. E. Birch, D.G. Birch, and R. D. Uauy. 1993. Effect of supplementation with n-3 long chain polyunsaturated fatty acids on retinal and cortical development in premature infants. *American Journal Clinical Nutrition*. 57: 807s-812s.
- Iida, K., N. Kobayashi, H. Kohno, A. Miyamoto, and Y. Fukui. 2004. A comparative study of induction of estrus and ovulation by three different intravaginal devices in ewes during the non-breeding season. *Journal Reproduction and Development*. 50: 63-69.
- Iñiguez, G., A. Villavicencio, F. Gabler, A. Palomino and M. Vega. 2001. Effect of nitric oxide on the expression of insulin-like growth factors and insulin-like growth factor binding proteins throughout the lifespan of the human corpus luteum. *Reproduction*. 122: 865-873.
- Kitessa S. M., D. Peake, R. Bencini, and A.J. Williams. 2003. Fish oil metabolism in ruminants III. Transfer of n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) from tuna oil into sheep's milk. *Animal Feed Science and Technology* 108: 1-14.
- Kinsella J., E. 1986. Food components with potential therapeutic benefits: the n-3 polyunsaturated fatty acids of fish oil. *Food Technology*. 89 -97.
- Kohno, H., C. Okamoto, K. Iida. T. Takeda, E. Kaneko, C. Kawashima, A. Miyamoto, and Y. Fukui. 2005. Comparison of estrus induction and subsequent fertility with two different intravaginal devices in ewes during the non-breeding season. *Journal of Reproduction and Development*. 51: 805-812.
- Kosior-Korzecka, U., and R. Bobowiec. 2003. Changes in the level of endogenous leptin, FSH, 17 β -Oestradiol and metabolites during lupin-induced increase in ovulation rate in ewes. *Journal of Veterinary Medicine Series* 50(7). 343-349 (Abstract). www.blackwell-synergy.com/toc/jva/50/7
- Knowles, G. R., M. Palacios, M. Richard, J. Palmer. and S. Mocada. 1989. Formation of nitric oxide from L-arginine in the central nervous system: A transduction mechanism for stimulation of the soluble guanylate cyclase. *Medical Sciences. Proc. Natl. Acad. Sci.* 86:5159-5162.
- Kridli, R. T., M. Q. Husein, H. A. Muhdi, and J. M. Al-Khazaleh. 2006. Reproductive performance of hormonally-treated anestrus Awassi ewes. *Anim Reprod.* 3(3):347-352.

- Leonard J., V. 2001. The nutritional management of urea cycle disorders. *Journal Pediatric*. 138: 540-544.
- López-Sebastián, A., A. Gonzáles-Bulnes, y M. J. Santiago. 2001. Manejo reproductivo en pequeños rumiantes. *In: Memorias del II Curso Internacional. "Fisiología de la Reproducción en rumiantes"*. Colegio de Postgraduados. Texcoco, Edo de México. pp 1-22.
- López-Sebastián, A., A. Gonzáles-Bulnes, M. J. Santiago, L. A. Veiga, D. A. Toledano, I. Contreras. 2005. Manejo reproductivo en pequeños rumiantes. *In: Memorias del IV Curso Internacional de Reproducción en Rumiantes*. Colegio de Postgraduados. Texcoco, Edo de México. pp 83-104.
- Luna M. E., D. M. Albarrán, y N. J. L. Gallardo. 2006. Situación actual y perspectivas de la producción de carne de bovino en México. www.sagarpa.gob.mx/Dgg/estudio/sitbov06.pdf
- Marín, A. A. M., M. J. C. Tinoco, C. J. Herrera, G. L. G. Sánchez, P. V. M. Sánchez, R. J. L. Solorio, y V. A. García. 2007. Reinicio de la actividad ovárica y nivel de metabolitos de lípidos en vacas lecheras suplementadas con aceite vegetal durante el posparto temprano. *Interciencia*. 32(3): 180-184.
- Mattos, R., R. C. Staples, and W. W. Thatcher. 2000. Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminants. *Journal Reproduction and Fertility. Reviews of Reproduction*. 5: 38-45.
- Milner, R.D., M. A. Ashworth, and A. J. Barson. 1972. Insulin release from human foetal pancreas in response to glucose, leucine and arginine. *Journal of Endocrinology*. 52: 497-505.
- Monget, P., S. Fabre, P. Mulsant, F. Leclercq, J.M. Elsen, S. Mazerbourg, C. Pisselet, and D. Monniaux. 2002. Regulation of ovarian folliculogenesis by IGF and BMP system in domestic animals. *Domestic Animal Endocrinology* 23: 139-154.
- Muñoz-Gutiérrez, M., D. Blache, G.B. Martin, and R.J. Scaramuzzi. 2004. Ovarian follicular expresión of mRNA encoding the type I IGF receptor and IGF-binding protein-2 in sheep following five days of nutritional supplementation with glucose, glucosamine or lupinus. *Reproduction* 128: 747-756.
- Nelson, D.L. and M.M. Cox. 2000. *Lehninger principles of biochemistry*. New York, N.Y. 3a ed. Ed. Freeman W H & Co. 1152p.

- Nottle, M. B., B. P. Setchell, and R. F. Seemark. (1987): Short-term supplementation with lupin gain increases FSH in the ovariectomized, oestradiol-implanted ewe. Proceedings of Australian Society Reproduction Biology. 19-37.
- Oldham, C. M., D. R. Lindsay. 1984. The minimum period of intake of lupin grain required by ewes to increase their ovulation rate when grazing dry summer pasture. Univ. Press, Cambridge, 274-275.
- Palmer, J. P., R. M. Walter, and J. W. Ensink. 1975. Arginine stimulated acute phase of insulin and glucagon secretion in normal man. Diabetes. 24: 735-740.
- Peluso J., J. 2006. Multiplicity of Progesterone's Actions and Receptors in the Mammalian Ovary. Biology of Reproduction. 75: 2-8.
- Potenza, M.A., C. Nacci, and D. Mitolo-Chieppa. 2001. Immunoregulatory effects of L- Arginine and therapeutical implications. Curr. Drug Targ., 1: 67-77.
- Rajkovic, A., A. S. Pangas, and M. M. Matzuk. 2006. Follicular development: Mouse, Sheep and Human Models. In: Knobil and Neill's Physiology of Reproduction. Elsevier. Pp 383-423.
- Recabarren, S. E., A. Jofre, A. Lobos, P. Orellana, and J. Parilo. 1996a. Effect of arginina and ornithine infusions on luteinizing hormona secretion in prepuberal ewes. Journal of Animal Sciences. 74: 162-166.
- Recabarren, S. E., H. Escobar, A. Lobos, M. P. Recabarren, and J. Parilo. 1996b. Luteinizing hormone pulse frequency is increased by Arginine infusion in pre-pubertal sheep. Experimental Clinical Endocrinology Diabets. 104: 72-77.
- Rémond, D., M. P. Le Guen, C. Poncet. 2003. Degradation in the rumen and nutritional value of lupin (*Lupinus albus* L.) seed proteins effect of extrusion. Animal Feed and Technology. 105: 55-70.
- Robinson, S. R., A. G. P. Pushpakumara, Z. Cheng, R. A. Peters, E. R. D. Abayasekara, and C. D. Wathes. 2002. Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on ovarian and uterine function in lactating dairy cows. Reproduction. 124: 119-131.
- Robinson, J. J., J. C. Ashworth, J. A. Rooke, M. L. Mitchell, and G. T. McEvoy. 2006. Nutrition and fertility in ruminant livestock. Animal Science and Technology. 126: 259-276.

- Rhodes, L., and P. W. Nathanielsz. 1988. Comparison of a controlled internal drug release device containing progesterone with intravaginal medroxyprogesterone sponges for estrus synchronization in ewes. *Theriogenology* 4: 831.
- Rooke, J. A., C. C. Shao, and B. K. Speake. 2001. Effects of feeding tuna oil on the lipid composition of pig spermatozoa and in vitro characteristics of semen. *Reproduction* 121: 315-322.
- Rodehutsord, M., P. Young, N. Phillips, and C. L. White. 1999. Wool growth in merino wethers fed lupinus untreated or treated with heat or formaldehyde, with and without a supplementation of rumen protected methionine. *Animal Science and Technology* 82: 213-226.
- Rondón, M.Z.A., J. B. de Combillas., U.J. Said., N. Martínez, y L. Ríos. 2002. Evaluación de algunos factores que afectan la introducción a la reproducción en borregas West African. *Revista Científica Vol. XII-Suplemento 2*, Octubre, 445-448.
- SAGARPA. 2006. Coordinación General de Ganadería. Normas Oficiales www.sagarpa.gob.mx/dgg/nmx
- SAS. 1999. The SAS system for Windows. Version 8. SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA.
- Scaramuzzi R., J. 1988. Reproduction research in perspective. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production* 17: 57-73.
- Scaramuzzi, R. J., B. K. Campbell, J. A. Downing., N. R. Kendall., M. Khalida, M. Muñoz-Gutiérrez., and A. Somchita. 2006. A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate (Abstract). *Reproduction Nutritional and Development*. 46: 339-354. *In: www.edpsciences.org*
- Segura, J. C., L. Sarmiento, and O. Rojas. 1996. Productivity of pelibuey and blackbelly ewes in México under extensive management. *Small Ruminant Research*. 21: 57-62.
- Schild D., and D. Restrepo. 1998. Transduction mechanisms in vertebrate olfactory receptor cells. *Physiological Reviews*. American Physiological Society. *Physiological Reviews*. 78 : 429-466.
- Sheard, N. F. 1998. Fish consumption and risk of sudden cardiac death. *Nutrition Review*. 56(6): 177-179.

- SIAP. 2003. Anuario Agropecuario. www.siap.gob.mx.
- SNIIM, 2006. [www.secofi-sniim.gob.mx/SNIIM-Archivosfuente /Comentarios /Otros/cnapec-06.xls](http://www.secofi-sniim.gob.mx/SNIIM-Archivosfuente/Comentarios/Otros/cnapec-06.xls)
- Somchitac, A., B.K. Campbell, M., Khalidb, N.R., Kendall and R.J. Scaramuzzi. 2007. The effect of short-term nutritional supplementation of ewes with lupin grain (*Lupinus luteus*), during the luteal phase of the estrous cycle on the number of ovarian follicles and the concentrations of hormones and glucose in plasma and follicular fluid . *Theriogenology*. 68(7): 1037-1046 (Abstract). [www.theriojournal.com/article/ PIIS009 3691X07004918 /abstract](http://www.theriojournal.com/article/PIIS0093691X07004918/abstract)
- Souza, H. C J., B. K. Campbell, and T. D. Baird. 1997. Follicular dynamics and ovarian steroid secretion in sheep during the follicular and early luteal phases of the estrous cycle. *Biology of Reproduction*. 56: 483-488.
- SPSS, 2002. The SPSS for Windows, 11.5.0. Kaplan-Meier Survival Analysis. SPSS, Inc.
- Squires E., J. 2001. Applied Animal Endocrinology. CABI Publishing. USA. 234 pp.
- Stewart, R., and C. M. Oldham. 1986. Feeding lupins to ewes for four days during the luteal phase can increase ovulation rate. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production* 16: 367-370.
- Sticker, S. L., D. L. Jr. Thompson, and L. R. Gentry. 2001. Pituitary hormone insulin responses to infusion of amino acids and N-methyl-D,L-aspartate in horses. *Journal Animal Science*. 79: 735-744.
- Sukardi S., H. Yaakub, S. Ganabadi, and L.H Cheng. 2006. Effects of L-Arginine on the reproductive system of male rabbits. *Malaysia Journal Nutrition* 12 (2): 201-211.
- Tsukahara, S., H. Tsukamara, and K. Maeda. 1998. Estrogen modulates effects of glutamate on *In Vitro* gonadotropin-releasing hormone release by altering nitric oxide action in female rats. *Journal Reproduction and Development*. 44: 399-405.
- Valencia, Z., M, and E. G. Padilla. 1983. Pelibuey sheep in México. In: Hair sheep of western Africa and the Americas. A genetic resource for the tropics. Winrock International. Boulder Colorado. Pp 55 -74.

- Visek W., J. 1985. Arginine and disease states. *Journal Nutrition*. 115: 532-541.
- Viñoles, C., M. Forsberg, G. B. Martin, C. Cajarville, J. Repetto, and A. Meikle. 2005. Short-term nutritional supplementation of ewes in low body condition affects follicle development due to an increase in glucose and metabolic hormones. *Reproduction* 129: 299-309.
- Viñoles G., C. 2003. Effect of Nutrition on Follicle Development and Ovulation Rate in the Ewe. Doctoral thesis. Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala.
- Webb, R., A. M. Driancourt, and P. J. Hanrahan. 1998. Ovulation rate in the ewe: Mechanisms underlying genetic variation. *Wool Technology Sheep Breed*. 46(4): 343-352.
- Wildeus S. 1999. Current concepts in synchronization of estrus: sheep and goats. Proceedings of the American Society of Animal Science. American Society of Animal Sciences. 1-14.
- Williams, S. A., D. Blache, G. B. Martin, R. Foot, M. A. Blackberry, and R. J. Scaramuzzi. 2001. Reproduction. Effect of nutritional supplementation on quantities of glucose transporters 1 and 4 in sheep granulosa and theca cell. *Reproduction*. 122: 947-956.
- Wu, G., and C. J. Meininger. 2002. Regulation of nitric synthesis by dietary factors. *Annual Review Nutrition*. 22: 61-86.
- Wu, G., and M. S. Morris. 1998. Arginine Metabolism: Nitric Oxide and beyond. *Biochemistry Journal*. 336: 1-17.