



# **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS  
CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD  
GANADERÍA

## **«ESTRATEGIAS DE MANEJO REPRODUCTIVO EN LOS OVINOS PELIBUEY CON 'EFECTO MACHO' Y NUTRICIÓN FOCALIZADA»**

**JOSÉ ANTONIO HERNÁNDEZ MARÍN**

**TESIS**

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

**DOCTOR EN CIENCIAS**

**MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO**

**2015**

**ESTRATEGIAS DE MANEJO REPRODUCTIVO EN LOS OVINOS PELIBUEY CON  
'EFECTO MACHO' Y NUTRICIÓN FOCALIZADA**

La presente tesis titulada: “**Estrategias de manejo reproductivo en los ovinos Pelibuey con ‘efecto macho’ y nutrición focalizada**”, realizada por el alumno: **José Antonio HERNÁNDEZ MARÍN**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS  
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD  
GANADERÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:

DR. JAIME GALLEGOS SÁNCHEZ

ASESOR:

DR. ARTURO PRO MARTÍNEZ

ASESOR:

DR. PONCIANO PÉREZ HERNÁNDEZ

ASESOR:

DR. CÉSAR CORTEZ ROMERO

ASESOR:

DRA. CAMELIA ALEJANDRA HERRERA CORREDOR

**Montecillo, Texcoco, estado de México, 19 de junio de 2015**

# ESTRATEGIAS DE MANEJO REPRODUCTIVO EN LOS OVINOS PELIBUEY CON 'EFECTO MACHO' Y NUTRICIÓN FOCALIZADA

José Antonio Hernández Marín, Dr.

Colegio de Postgraduados, 2015

Con la finalidad de evaluar el 'efecto macho' (EM), la acción de aminoácidos estimuladores (AAE) y el efecto de la nutrición en el manejo reproductivo de ovinos Pelibuey, se realizaron ocho experimentos (EXP). En el EXP1, se evaluaron la tasa ovulatoria (TO) y la cantidad de folículos ováricos (FO) al inducir el pico preovulatorio de la LH (ppLH) y la ovulación (OV) en ovejas prepúberes (OP), con un reconstituyente energético comercial (REC, Metabolase®) que contenía AAE (cRECcEM); con EM (sRECcEM) y su interacción (cRECcEM). En el EXP2, se indujo el estro con progestágenos (CIDR®) y EM en OP suministradas con REC (EM+REC+CIDR y REC+CIDR). En el EXP3, se sincronizó el estro con CIDR® a los 35 d postparto (PP) en ovejas con amamantamiento continuo (AC), con (+) o sin (-) EM (AC+EM+CIDR y AC-EM+CIDR). En el EXP4, se sincronizó el estro a los 45 d PP con prostaglandinas (PGF2 $\alpha$ ) en ovejas con AC, con EM (cEMsDT), con destete temporal (DT; sEMcDT) y su interacción (cEMcDT). En el EXP5, se indujo el estro con CIDR® reutilizados (CIDRr) en OP con y sin (s) EM (EM+CIDRr y sEM+CIDRr). En el EXP6, se sincronizó el estro PP con CIDRr en ovejas con AC, con y sin EM (AC+EM+CIDRr y AC+sEM+CIDRr). En el EXP7, se evaluaron la cantidad de FO, el porcentaje de estro y OV, en respuesta a la nutrición focalizada (NF, con: c y sin: s) durante la sincronización del estro con CIDR® en ovejas adultas con AC, con condición corporal alta (a) y baja (b; ACsNFCCb, ACsNFCCa, ACcNFCCb y ACcNFCCa). El EXP8, fue similar al EXP7, pero con ovejas no gestantes y sin crías (vacías, VA; VAsNFCCb, VAsNFCCa, VAcNFCCb y VAcNFCCa). El cambio de peso se evaluó en todas las ovejas, excepto en las del EXP4. En OP, la TO ( $p>0.05$ , sRECcEM: 0.70 y cRECcEM: 0.75) y el porcentaje de OV ( $p>0.05$ , sRECcEM: 70% y cRECcEM: 75%) fueron diferentes ( $p<0.05$ ) comparados con cRECcEM (0.17 y 17%, respectivamente). La inducción del ppLH con EM fue similar ( $p>0.05$ ). En la sincronización con CIDR®, el EM favoreció ( $p<0.05$ ) el inicio del estro y la prolificidad (EM+REC+CIDR: 32.3 $\pm$ 3.8 h y 1.6 $\pm$ 0.2 crías y REC+CIDR: 62.1 $\pm$ 3.6 h y 1.0 $\pm$ 0.0 crías); con CIDRr, el EM favoreció ( $p<0.05$ ) el inicio del estro, el retorno al estro y la fecundidad (EM+CIDRr: 39.7 $\pm$ 5.0 h, 20.0% y 0.6 $\pm$ 0.2 crías y sEM+CIDRr: 59.2 $\pm$ 2.9 h, 33.3% y 0.5 $\pm$ 0.2 crías, respectivamente). En ovejas PP con AC, el EM favoreció ( $p<0.05$ ) el inicio del estro, el retorno al estro, la tasa de gestación y la fecundidad, en la sincronización con CIDR®; con CIDRr, el EM favoreció ( $p<0.05$ ) el inicio del estro y la prolificidad. En la sincronización con PGF2 $\alpha$ , la interacción cEMcDT favoreció ( $p<0.05$ ) la respuesta al estro, el porcentaje de retorno al estro y la fecundidad, comparado con sEMsDT, cEMsDT y sEMcDT. La cantidad de FO >6 mm de diámetro aumentó ( $p<0.05$ ) en las ovejas VA o con AC, con NF y CC alta (VAcNFCCa: 2.2 $\pm$ 0.2 y ACcNFCCa: 1.8 $\pm$ 0.11). La NF, la CC y su interacción, no influyeron ( $p>0.05$ ) en la respuesta al estro, el inicio del estro y el porcentaje de OV en las ovejas VA o con AC. Se observaron cambios de peso ( $p<0.05$ ) en las ovejas por efecto del *tratamiento\*periodo*. El peso promedio fue similar ( $p>0.05$ ) entre tratamientos. El 'efecto macho' y la acción del reconstituyente energético inducen la ovulación en ovejas prepúberes. El 'efecto macho' adelanta el inicio del estro sincronizado en ovejas con amamantamiento continuo e incrementa su fecundidad. La nutrición focalizada aumenta los folículos ováricos >6 mm de diámetro en ovejas con condición corporal alta, vacías o con amamantamiento continuo.

Palabras clave: Bioestimulación, LH, aminoácidos, actividad ovárica, sincronización, flushing.

# REPRODUCTIVE HANDLING STRATEGIES IN PELIBUEY SHEEP WITH 'MALE EFFECT' AND FOCUSED NUTRITION

José Antonio Hernández Marín, Dr.

Colegio de Postgraduados, 2015

In order to evaluate the 'male effect' (ME), neurostimulators amino acids (NAA) action and the energetic and proteinic metabolites effect on Pelibuey sheep's reproductive management, eight experiments (EXP) were conducted. In EXP1, ovulatory rate (OR) and amount of ovarian follicles (OF) were evaluated in response to the preovulatory LH peak (pLH) and ovulation (OV) were induced in ewe lambs (EL) with (w) or without (wo) a commercial energy tonic (CET, Metabolase®) which contained NAA (wCETwoME); with ME (woCETwME) and its interaction (wCETwME). In EXP2, the estrous in EL with EM and CET (ME+CET+CIDR and CET+CIDR) were induced with progestogen (CIDR®). In EXP3, the estrous in ewes with continuous suckling (CS) and with (+) or without (-) ME (CS+ME+CIDR and CS-ME+CIDR) were synchronized with CIDR® at day 35 postpartum (PP). In EXP4, the estrous in ewes with CS, with ME (wMEwoTW), with temporary weaning (TW; woMEwTW) and its interaction (wMEwTW) were synchronized with prostaglandins (PGF2 $\alpha$ ) at day 45 PP. In EXP5, the estrous in EL with ME (EM+CIDRr and woME+CIDRr) were induced with reused CIDR® (CIDRr). In EXP6, the estrous in ewes with CS and ME (CS+ME+CIDRr and CS+woME+CIDRr) were synchronized with CIDRr. In EXP7, the amount of OF, the percentage of estrous and OV in response to focused nutrition (FN) during the estrous synchronization with CIDR in ewes with CS, and with high (H) or low (L) body condition (BC; CSwoFNLBC, CSwoFNHBC, CSwFNLBC and CSwFNHBC) were evaluated. EXP8 was similar to EXP7, but ewes were not pregnant and without offspring (empty, E; EwoFNLBC, EwoFNHBC, EwFNLBC and EwFNHBC). The weight change was registered in all ewes except for ewes in EXP4. In EL, OR ( $p>0.05$ , woCETwME: 0.70 and wCETwME: 0.75) and the percentage of OV ( $p>0.05$ , woCETwME: 70% and wCETwME: 75%) in comparison with wCETwoME (0.17 and 17%, respectively) were different ( $p<0.05$ ). The pLH surge induction was similar with ME ( $p>0.05$ ). In CIDR® synchronization, the ME influenced the estrous onset and prolificacy ( $p<0.05$ ; ME+CET+CIDR: 32.3 $\pm$ 3.8 h, 1.6 $\pm$ 0.2 lambs and CET+CIDR: 62.1 $\pm$ 3.6 h, 1.0 $\pm$ 0.0 lambs, respectively); in CIDRr's, the ME favored the estrous onset, the return to estrous and fertility ( $p<0.05$ ; ME+CIDRr: 39.7 $\pm$ 5.0 h, 20.0%, 0.6 $\pm$ 0.2 lambs and woME+CIDRr: 59.2 $\pm$ 2.9 h, 33.3%, 0.5 $\pm$ 0.2 lambs, respectively). In PP ewes with CS, the ME improved the estrous response, the return to estrous, the pregnancy rate and fertility, in response to synchronization with CIDR® ( $p<0.05$ ); in CIDRr's, it favored the estrous onset and prolificacy ( $p<0.05$ ). In PGF2 $\alpha$  synchronization, the estrous response, the return to estrous and fertility, were improved by the interaction wMEwTW in comparison with the woMEwoTW, wMEwoTW and woMEwTW effects ( $p<0.05$ ). The amount of OF >6 mm in diameter in response to the interaction with FN and high BC ( $p<0.05$ ; CSwFNHBC: 1.8 $\pm$ 0.11 and EwFNHBC: 2.2 $\pm$ 0.2) was increased. The FN and BC effects and their interaction did not influence in estrous response, the estrous onset, and the percentage of OV in E ewes or ewes with CS ( $p>0.05$ ). Changes in weight by the *treatment\*period* effect ( $p<0.05$ ) were observed. The average weight was similar among treatments ( $p>0.05$ ). The 'male effect' and the energy tonic action induce ovulation in ewe lambs. The 'male effect' advances the beginning of estrous synchronization in ewes with continuous suckling and increases its fertility. The focused nutrition increases the ovarian follicles >6 mm in diameter in empty ewes or ewes with continuous suckling ewes, both of them with high body condition.

Keywords: Biostimulation, amino acids, LH, follicular development, synchronization, flushing.

«Eso fui. Una suerte de botella echada al mar.

Un niño que se prometía amanecer con torres de sol.

O tal vez una primavera que avanzaba a destiempo.»

Mario Benedetti

*A mis padres María de los Ángeles y José Antonio.*

*A mis hermanos David Alejandro, Alan e Iván.*

*A mi novia Griselda Maki.*

*A mis grandes amores Huilzon y Sohé.*

*Al Pueblo de México.*

*José Antonio*

## AGRADECIMIENTOS

Al **Colegio de Postgraduados**, por permitirme continuar con mi formación académica.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACYT**), por el financiamiento otorgado para realizar mis estudios de Doctorado.

Al Colegio de Postgraduados a través del **FIDEICOMISO de Administración e Inversión No. 167304**, por el Financiamiento al Proyecto de Investigación de Tesis de **Doctorado en Ciencias 2011**.

A la **LPI11**: Sistemas de Producción Agrícola, Pecuaria, Forestal, Acuícola y Pesquera y al Laboratorio de Reproducción de Ovinos y Caprinos (**LaROCa**), por el financiamiento para la realización del Proyecto de Investigación Doctoral.

A la **LPI5**: Biotecnología Microbiana, Vegetal y Animal, por los recursos económicos y el apoyo brindados para asistir a los eventos científicos y presentar avances de investigación.

Al **Dr. Jaime GALLEGOS SÁNCHEZ**, por ser un gran profesor y amigo, por su paciencia y constancia en la dirección durante mis estudios de Postgrado, por enseñarme la Filosofía del Trabajo y permitirme el desarrollo académico y profesional desde la Licenciatura.

Al **Dr. Arturo PRO MARTÍNEZ**, por su dedicación en la revisión y corrección de estilo de la presente Tesis.

Al **Dr. Ponciano PÉREZ HERNÁNDEZ**, por su gran calidad humana, por sus valiosos comentarios y sugerencias en el escrito y presentación de la Tesis Doctoral.

Al **Dr. César CORTEZ ROMERO**, por los conocimientos transmitidos durante mis estudios de Doctorado, por su gran participación y apoyo en la realización de esta Investigación.

A la **Dra. Camelia Alejandra HERRERA CORREDOR**, por su colaboración para la realización y apoyo en la presente Investigación.

Al **Dr. Humberto VAQUERA HUERTA**, por las asesorías y recomendaciones para los análisis estadísticos de los estudios realizados en esta Investigación.

A la **M.V.Z. Clara MURCIA MEJÍA** de la FMVZ de la UNAM y al **Dr. Belisario DOMÍNGUEZ** de la FMVZ de la UV, por el apoyo en el radioinmunoanálisis para esta Investigación.

A todos los compañeros del **Área de Fisiología de la Reproducción** del Laboratorio de Reproducción de Ovinos y Caprinos (**LaROCa**), en especial a los maestros en ciencias **Tania ARELLANO LEZAMA**, **Silvia FRAIRE CORDERO**, **Francisco CRUZ ESPINOZA** y **Said CADENA VILLEGAS**, por el apoyo técnico incondicional durante el desarrollo experimental.

A la Sra. **María Alejandra DÍAZ RENDÓN**, por el gran apoyo brindado durante mi estancia Doctoral en el Colegio de Postgraduados.

A **Newton** y a **Shendo**, por su participación en el desarrollo de los experimentos.

## CONTENIDO

	<b>Página</b>
I. INTRODUCCIÓN GENERAL .....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
2.1. Producción ovina en México .....	5
2.2. Control de los eventos reproductivos .....	5
2.3. Gonadotropinas.....	6
2.4. Pubertad en la oveja .....	7
2.5. Anestro postparto en la oveja.....	9
2.6. Protocolos de inducción y sincronización del estro en la oveja.....	10
2.7. Métodos naturales en la reproducción de pequeños rumiantes .....	11
2.8. Efecto macho .....	11
2.9. Nutrición focalizada .....	14
2.10. Aminoácidos neuroexcitadores y su relación con la reproducción animal.....	16
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	19
IV. ESTUDIOS REALIZADOS .....	20
4.1. INDUCCIÓN DE LA OVULACIÓN Y SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO EN OVEJAS PELIBUEY PREPÚBERES CON 'EFECTO MACHO' Y UN RECONSTITUYENTE ENERGÉTICO .....	20
4.1.1. Resumen .....	20
4.1.2. Abstract.....	21
4.1.3. Introducción.....	22
4.1.4. Materiales y métodos .....	24
4.1.4.1. Localización del área de estudio .....	24
4.1.4.2. Animales experimentales y manejo.....	24
4.1.4.3. Protocolo experimental y tratamientos .....	25
4.1.4.4. Evaluación de la actividad ovárica y la tasa ovulatoria .....	26
4.1.4.5. Determinación del pico preovulatorio de la LH.....	27
4.1.4.6. Sincronización del estro .....	28
4.1.4.7. Variables de estudio.....	29
4.1.4.8. Análisis estadístico.....	30
4.1.5. Resultados .....	33
4.1.5.1. Inducción de la ovulación .....	33
4.1.5.1.1. Evaluación de la actividad ovárica .....	33

4.1.5.1.2. Tasa ovulatoria.....	34
4.1.5.1.3. Incidencia, inicio, duración y amplitud del pico preovulatorio de la LH35	
4.1.5.1.4. Cambio de peso .....	36
4.1.5.2. Sincronización del estro con CIDR® .....	37
4.1.5.2.1. Respuesta al estro .....	37
4.1.5.2.2. Prolificidad y fecundidad .....	37
4.1.5.2.3. Cambio de peso .....	38
4.1.6. Discusión.....	38
Evaluación de folículos ováricos y tasa ovulatoria .....	38
Incidencia, inicio, duración y amplitud del pico preovulatorio de la LH .....	39
Respuesta a la sincronización del estro .....	40
Tasa de gestación.....	41
Prolificidad y fecundidad .....	41
Cambio de peso.....	42
4.1.7. Conclusiones.....	43
4.2. 'EFECTO MACHO' EN LA SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO CON PROGESTERONA O PROSTAGLANDINAS EN OVEJAS PELIBUEY POSTPARTO .....	44
4.2.1. Resumen .....	44
4.2.2. Abstract .....	45
4.2.3. Introducción.....	46
4.2.4. Materiales y métodos .....	48
4.2.4.1. Localización del área de estudio .....	48
4.2.4.2. Animales experimentales y manejo.....	48
4.2.4.3. Manejo del carnero .....	48
4.2.4.4. Tratamientos y protocolos de sincronización .....	49
4.2.4.5. Modalidad de amamantamiento .....	51
4.2.4.6. Inseminación artificial (IA) .....	51
4.2.4.7. Retorno al estro.....	52
4.2.4.8. Diagnóstico de gestación .....	52
4.2.4.9. Variables de estudio.....	52
4.2.4.10. Análisis estadístico.....	53
4.2.5. Resultados .....	55
4.2.5.1. Sincronización del estro postparto con dispositivos intravaginales (CIDR®) .....	55

4.2.5.1.1. Respuesta a la sincronización del estro .....	55
4.2.5.1.2. Tasa de gestación y parición.....	55
4.2.5.1.3. Prolificidad y fecundidad .....	56
4.2.5.1.4. Cambio de peso .....	56
4.2.5.2. Sincronización del estro postparto con prostaglandinas (PGF2 $\alpha$ ) .....	56
4.2.5.2.1. Respuesta a la sincronización del estro .....	56
4.2.5.2.2. Retorno al estro.....	57
4.2.5.8. Tasa de gestación y parición.....	58
4.2.5.9. Prolificidad y fecundidad .....	58
4.2.6. Discusión.....	58
Respuesta a la sincronización del estro.....	58
Inicio del estro.....	60
Retorno al estro .....	61
Tasa de gestación.....	62
Tasa de parición .....	63
Fecundidad y prolificidad .....	64
Cambio de peso .....	64
4.2.7. Conclusiones.....	65
4.3. INDUCCIÓN DEL ESTRO EN OVEJAS PREPÚBERES Y SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO EN OVEJAS PELIBUEY POSTPARTO CON DISPOSITIVOS INTRAVAGINALES REUTILIZADOS Y 'EFECTO MACHO'.....	66
4.3.1. Resumen.....	66
4.3.2. Abstract.....	67
4.3.3. Introducción.....	68
4.3.4. Materiales y métodos .....	69
4.3.4.1. Localización del área de estudio .....	69
4.3.4.2. Animales experimentales y manejo.....	69
4.3.4.3. Manejo del carnero .....	69
4.3.4.4. Modalidad de amamantamiento .....	70
4.3.4.5. Reutilización de los dispositivos intravaginales de progesterona.....	70
4.3.4.6. Tratamientos y protocolos experimentales.....	70
4.3.4.7. Retorno al estro.....	72
4.3.4.8. Diagnóstico de gestación .....	73
4.3.4.9. Variables de estudio.....	73
4.3.4.10. Análisis estadístico.....	73

4.3.5. Resultados .....	75
4.3.5.1. Inducción al estro en ovejas Pelibuey prepúberes .....	75
4.3.5.1.1. Respuesta a la inducción del estro .....	75
4.3.5.1.2. Tasa de gestación y parición.....	76
4.3.5.1.3. Prolificidad y fecundidad .....	76
4.3.5.2. Sincronización del estro en ovejas Pelibuey postparto .....	76
4.3.5.2.1. Respuesta a la sincronización del estro .....	76
4.3.5.2.2. Tasa de gestación y parición.....	76
4.3.5.2.3. Prolificidad y fecundidad .....	77
4.3.5.2.4. Cambio de peso .....	77
4.3.6. Discusión.....	78
Respuesta al estro .....	78
Retorno al estro .....	78
Inicio de estro.....	79
Tasa de gestación y parición .....	80
Prolificidad .....	81
Fecundidad .....	81
Cambio de peso .....	81
4.3.7. Conclusiones.....	82
4.4. NUTRICIÓN FOCALIZADA DURANTE LA SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO EN OVEJAS PELIBUEY CON DIFERENTE ESTADO FISIOLÓGICO Y CONDICIÓN CORPORAL .....	83
4.4.1. Resumen.....	83
4.4.2. Abstract.....	84
4.4.3. Introducción.....	86
4.4.4. Materiales y métodos .....	87
4.4.4.1. Localización del área de estudio .....	87
4.4.4.2. Animales experimentales y manejo.....	87
4.4.4.3. Nutrición focalizada .....	88
4.4.4.4. Tratamientos y protocolo experimental .....	89
4.4.4.5. Muestras sanguíneas .....	89
4.4.4.6. Evaluación del desarrollo folicular ovárico .....	89
4.4.4.7. Variables de estudio.....	90
4.4.4.8. Análisis estadístico.....	90
4.4.5. Resultados .....	92

4.4.5.1. Actividad folicular ovárica.....	92
4.4.5.2. Porcentaje de ovulación.....	93
4.4.5.3. Respuesta a la sincronización del estro.....	94
4.5.4.4. Cambio de peso.....	95
4.6. Discusión.....	97
Actividad folicular ovárica.....	97
Porcentaje de ovulación.....	99
Respuesta a la sincronización del estro.....	100
Inicio de estro.....	101
Cambio de peso.....	102
4.7. Conclusiones.....	103
V. DISCUSIÓN GENERAL.....	104
VI. CONCLUSIONES GENERALES.....	110
VIII. LITERATURA CITADA.....	111
IX. ANEXOS.....	122

## LISTA DE CUADROS

### Página

<b>Cuadro 1.</b> Experimento factorial en ovejas Pelibuey prepúberes tratadas con reconstituyente energético y ‘efecto macho’ a dos niveles cada uno. ....	25
<b>Cuadro 2.</b> Cantidad de folículos de 2 a 3 mm en ovejas Pelibuey prepúberes en respuesta a dos niveles de suministro del reconstituyente energético y de ‘efecto macho’.....	33
<b>Cuadro 3.</b> Cantidad de folículos de 4 a 5 mm en ovejas Pelibuey prepúberes en respuesta a dos niveles de suministro del reconstituyente energético y de ‘efecto macho’.....	34
<b>Cuadro 4.</b> Cantidad de folículos mayores de 6 mm en ovejas Pelibuey prepúberes en respuesta a dos niveles de suministro del reconstituyente energético y de ‘efecto macho’.....	34
<b>Cuadro 5.</b> Cantidad de cuerpos lúteos en ovejas Pelibuey prepúberes en respuesta a dos niveles de suministro del reconstituyente energético y de ‘efecto macho’..	35
<b>Cuadro 6.</b> Características del pico preovulatorio de la LH en ovejas Pelibuey prepúberes en respuesta al ‘efecto macho’ y a dos niveles de suministro del reconstituyente energético. ....	35
<b>Cuadro 7.</b> Experimento factorial en ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo con ‘efecto macho’ y destete temporal a dos niveles cada uno.....	50
<b>Cuadro 8.</b> Respuesta a la sincronización del estro en ovejas Pelibuey con amamantamiento contínuo estimuladas con ‘efecto macho’ (AC+EM+CIDR) y sin ‘efecto macho’ (AC+CIDR). ....	55
<b>Cuadro 9.</b> Respuesta a la sincronización del estro con prostaglandinas en ovejas Pelibuey postparto con dos niveles de ‘efecto macho’ y de destete temporal...57	57
<b>Cuadro 10.</b> Retorno al estro en ovejas Pelibuey postparto con dos niveles de ‘efecto macho’ y de destete temporal. ....	57
<b>Cuadro 11.</b> Cantidad de crías nacidas en ovejas Pelibuey postparto con dos niveles de ‘efecto macho’ y de destete temporal. ....	58
<b>Cuadro 12.</b> Experimento factorial en ovejas Pelibuey adultas con nutrición focalizada y condición corporal a dos niveles cada uno. ....	88

<b>Cuadro 13.</b> Tratamientos experimentales en ovejas Pelibuey adultas. ....	88
<b>Cuadro 14.</b> Desarrollo folicular en ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo, en respuesta a la nutrición focalizada y a la condición corporal.....	92
<b>Cuadro 15.</b> Desarrollo folicular en ovejas Pelibuey vacías, en respuesta a la nutrición focalizada y condición corporal. ....	93
<b>Cuadro 16.</b> Respuesta al estro en ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo dos niveles de nutrición focalizada y condición corporal. ....	94
<b>Cuadro 17.</b> Respuesta al estro de ovejas Pelibuey vacías con dos niveles de nutrición focalizada y condición corporal.....	94
<b>Cuadro 18.</b> Cambio de peso en ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo en respuesta a la nutrición focalizada y a la condición corporal.....	96
<b>Cuadro 19.</b> Cambio de peso en ovejas Pelibuey vacías en respuesta a la nutrición focalizada y a la condición corporal.....	96

## LISTA DE FIGURAS

### Página

<b>Figura 1.</b> Relación entre la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), la hormona luteinizante (LH) y el estradiol (E <sub>2</sub> ) durante la transición de la pubertad en corderas. ....	8
<b>Figura 2.</b> Inicio del estro y la ovulación por la presencia del carnero con respecto a la regresión prematura del cuerpo lúteo.....	12
<b>Figura 3.</b> Secreción de la hormona luteinizante (LH) inducida por la introducción del carnero en ovejas anéstricas.....	13
<b>Figura 4.</b> Presentación de la ovulación y el estro en respuesta al ‘efecto macho’ en ovejas anéstricas.....	13
<b>Figura 5.</b> Efectos de la nutrición en la tasa ovulatoria en ovejas .....	15
<b>Figura 6.</b> Aminoácidos biológicamente activos y moléculas derivadas de aminoácidos disponibles de la proteína digestible .....	17
<b>Figura 7.</b> Protocolo de inducción a la ovulación en ovejas Pelibuey prepúberes en respuesta a la acción del reconstituyente energético (cRECcEM); al estímulo con ‘efecto macho’ (sRECcEM); a la interacción de factores (cRECcEM) o al tratamiento testigo (sRECcEM).....	26
<b>Figura 8.</b> Protocolo de sincronización del estro en ovejas Pelibuey prepúberes suministradas con reconstituyente energético (REC+CIDR) y en combinación con el ‘efecto macho’ (EM+REC+CIDR), previo a la inserción del dispositivo intravaginal. ....	28
<b>Figura 9.</b> Cantidades plasmáticas de la LH en ovejas Pelibuey prepúberes en respuesta al ‘efecto macho’ (sRECcEM) y a la interacción con el reconstituyente energético (cRECcEM).....	36
<b>Figura 10.</b> Peso corporal en ovejas Pelibuey prepúberes en respuesta al reconstituyente energético (cRECcEM), al ‘efecto macho’ (sRECcEM), a la interacción de factores (cRECcEM) y al tratamiento testigo (sRECcEM).....	37
<b>Figura 11.</b> Protocolo de sincronización del estro a los 35 d postparto con dispositivos intravaginales liberadores de progesterona (CIDR®), en ovejas Pelibuey con	

amamantamiento continuo (AC+CIDR) y con el estímulo previo del ‘efecto macho’ (AC+EM+CIDR)..... 49

**Figura 12.** Protocolo de sincronización del estro a los 45 d postparto, con dos dosis de prostaglandinas (PGF2 $\alpha$ ), en ovejas Pelibuey en respuesta al ‘efecto macho’ (cEMsDT), al destete temporal (sEMcDT), a la interacción de factores (cEMcDT) y al tratamiento testigo (sEMsDT)..... 51

**Figura 13.** Protocolo de inducción al estro en ovejas Pelibuey prepúberes con ‘efecto macho’ (EM+CIDRr) y sin ‘efecto macho’ (sEM+CIDRr), previo a la inserción del dispositivo intravaginal reutilizado. .... 71

**Figura 14.** Protocolo de sincronización del estro en ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo, estimuladas con ‘efecto macho’ (AC+EM+CIDRr) y sin ‘efecto macho’ (AC+CIDRr), previo a la inserción del dispositivo intravaginal reutilizado..... 72

**Figura 15.** Cambio de peso en ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo con ‘efecto macho’ (AC+EM+CIDRr) y sin ‘efecto macho’ (AC+CIDRr), previo a la inserción del dispositivo intravaginal reutilizado. .... 77

## I. INTRODUCCIÓN GENERAL

En México, la mayoría de los rebaños pertenecen a productores de bajos recursos y nivel tecnológico, donde predomina la cruce de ovinos de pelo con ganado lanar, aunque la raza Pelibuey destaca por su capacidad reproductiva, rusticidad y adaptación, los índices productivos y reproductivos son bajos, debido a que el manejo reproductivo, nutricional, sanitario y genético, prácticamente no existen. Por tanto, mejorar la eficiencia productiva, implica el aumento de insumos o recursos financieros, lo cual se observa en un mayor egreso por parte del ovinocultor ([Macedo y Castellanos, 2004](#)).

Estudios en ovinos consideraron prácticas de manejo para mejorar la eficiencia productiva de los rebaños de manera técnica y económica, en los cuales se pretende eliminar la manipulación farmacológica de los animales ([Martin \*et al.\*, 2004](#)). Estas metodologías se basan en el conocimiento de los eventos reproductivos, los factores socio-sexuales y los efectos de la nutrición ([Hawken y Martin, 2012](#); [Scaramuzzi \*et al.\*, 2013](#)), como la bioestimulación, a partir de las feromonas involucradas en la comunicación química para el estímulo sexual durante el cortejo ([Hawken y Martin, 2012](#)) o la alimentación focalizada, a partir de complementos energéticos y proteínicos destinados en los momentos críticos de la reproducción ([Somchit-Assavacheep, 2011](#)).

En ovejas Pelibuey, se reportó la bioestimulación con el carnero para restablecer la actividad reproductiva en el anestro estacional ([Martínez-Rojero \*et al.\*, 1998](#); [Valencia \*et al.\*, 2006](#)), durante el periodo postparto ([Morales-Terán \*et al.\*, 2011](#); [Castillo-Maldonado \*et al.\*, 2013](#)) y para inducir la ovulación en ovejas prepúberes ([Ramón-Ugalde y Sanginés-García, 2002](#); [Álvarez y Andrade, 2008](#)). Así, la introducción repentina del carnero en el corral de las ovejas que no ovulan, estimula por medio de las feromonas que secreta, que las ovejas modifiquen la secreción pulsátil de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y como consecuencia, induce el pico preovulatorio de la hormona luteinizante (LH), lo cual provoca la ovulación ([Martin \*et al.\*, 1986](#)). A este estímulo socio-sexual se le conoce como 'efecto macho', el cual se

combina con los protocolos de sincronización del estro con progesterona (O'Doherty y Crosby, 1990), progesterona y GnRH (Jordan *et al.*, 2009), GnRH (Mirzaei *et al.*, 2011), progesterona residual de dispositivos intravaginales reutilizados (Ungerfeld, 2009) o con prostaglandinas (Contreras-Solis *et al.*, 2009; Ungerfeld, 2011); además, en ovejas amamantando, se sugiere incluir un destete temporal en la sincronización del estro postparto, para aumentar la secreción de la LH (Rodríguez *et al.*, 1986), reducir costos y mejorar la eficiencia en la inseminación artificial (Ungerfeld *et al.*, 2003).

Otra alternativa es la inclusión de complementos alimenticios, con base en los periodos de alimentación y la calidad de la dieta, en el inicio del ciclo estral, el desarrollo folicular, la calidad del ovocito y el desarrollo embrionario temprano (Scaramuzzi *et al.*, 2006). Se sabe que la alimentación genera el mayor egreso económico para el productor, no obstante, es importante definir los momentos críticos para incrementar la cantidad de energía y proteína en la dieta (Downing y Scaramuzzi, 1991), garantizar la eficiencia reproductiva y obtener el beneficio adicional de reducir los tratamientos hormonales exógenos.

En ovejas, la cantidad de folículos ováricos aumenta a partir de la nutrición focalizada con granos de *Lupinus luteus* (Somchit *et al.*, 2007), aceite de soya (Herrera-Corredor *et al.*, 2010); la tasa ovulatoria, con aceite de maíz (Herrera-Camacho *et al.*, 2008); los folículos ováricos y la tasa ovulatoria, con granos de *Lupinus* sp. (Lindsay, 1976; Teleni *et al.*, 1989; Downing y Scaramuzzi, 1991; Viñoles *et al.*, 2009b; Scaramuzzi *et al.*, 2006). La actividad ovárica responde a la adecuada secreción de la LH y de la FSH en la adenohipófisis, por la secreción de la GnRH en el hipotálamo. Esta comunicación endócrina también ocurre por la acción de compuestos que actúan como neurotransmisores, a partir del suministro de aminoácidos neuroestimuladores que favorecen la secreción pulsátil de la GnRH y la LH (Mahesh y Brann, 2005), como el glutamato (Brann y Mahesh, 1997), el ácido aspártico (Boni *et al.*, 2006) y la arginina (Recabarren *et al.*, 1996).

Por lo anterior, se plantearon las hipótesis de que el 'efecto macho' estimulará un cambio en la secreción pulsátil de la GnRH, inducirá un pico preovulatorio de la LH y como consecuencia, ocurrirá la ovulación en las ovejas con anestro prepuberal y postparto. La acción de los aminoácidos neuroestimuladores y el efecto de la nutrición focalizada, estimularán en el hipotálamo la secreción de la GnRH y como consecuencia, favorecerá la secreción de la LH y la FSH, las cuales responderán positivamente en la actividad ovárica de las ovejas prepúberes y adultas postparto. Además, el 'efecto macho' mejorará la eficiencia reproductiva de las ovejas con amamantamiento continuo sincronizadas con progesterona o con prostaglandinas.

Para pobrar estas hipótesis, se realizó la presente investigación y se plantearon los siguientes objetivos:

#### Objetivo general

- Evaluar la respuesta del 'efecto macho' y el aporte de aminoácidos neuroestimuladores, metabolitos energéticos y proteínicos en la inducción del estro y la ovulación durante la etapa prepuberal, o en la sincronización del estro postparto en ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo.

#### Objetivos específicos

- Determinar la respuesta del reconstituyente energético comercial con alto contenido de aminoácidos neuroestimuladores en la inducción a la ovulación y en la sincronización con progestágenos en ovejas Pelibuey prepúberes con 'efecto macho'.
- Caracterizar el pico preovulatorio de la LH en las ovejas Pelibuey prepúberes inducidas a la ovulación con el reconstituyente energético comercial y 'efecto macho'.
- Evaluar la respuesta del 'efecto macho' en:
  - la inducción al estro con progestágenos en presentación de dispositivos intravaginales nuevos y reutilizados en ovejas Pelibuey prepúberes.

- la sincronización del estro con progestágenos en presentación de dispositivos intravaginales nuevos y reutilizados en ovejas Pelibuey postparto con amamantamiento continuo.
- la sincronización del estro postparto con progestágenos o con prostaglandinas en ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo.
- Determinar la respuesta del destete temporal en forma conjunta con el 'efecto macho' en la sincronización del estro postparto con prostaglandinas, en ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo.
- Evaluar la actividad ovárica, el porcentaje de ovulación y la respuesta al estro, durante la sincronización en ovejas Pelibuey con diferente estado fisiológico y condición corporal, en respuesta al aumento de energía y proteína en la ración alimenticia.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Producción ovina en México

Los sistemas de producción de ovinos se localizan en el centro y en el sur del país, por lo general, con sistemas de pastoreo tradicionales, escasa tecnología y baja productividad. Se caracteriza y distingue la región Norte, la cual basa su producción en ovinos de lana y en los especializados para la producción de carne; se identifican como sistemas de producción tecnificados y ocupan grandes extensiones de tierra. La región Centro, cuya producción se basa en ganado cruzado con ovinos Suffolk o Hampshire y ovinos de pelo, se encuentran en zonas marginadas, agostaderos y terrenos agrícolas donde utilizan los residuos de las cosechas. Por último, la región Sur y Sureste, donde predominan sistemas con características tropicales por lo cual predominan ovinos Pelibuey y Black Belly, aunque recientemente se incorporaron las razas Dorper y Katahdin, especializadas en la producción de carne. Si se considera el nivel tecnológico alcanzado, los sistemas de producción ovino se pueden clasificar en extensivos, semi-intensivos e intensivos, técnicas asociadas a la ganadería, huertos frutales perennes y actividades silvopastoriles ([Pérez-Hernández et al., 2011](#)). En 2013, la producción ovina en México registró 57,980.35 toneladas de carne en canal, 113,342.1 toneladas de ovino en pie y 8,497,347 ovinos en el inventario nacional, con los aportes del estado de México (1,385,487; 16.3%), Hidalgo (1,162,358; 13.7%), Veracruz (665,845; 7.8%), Oaxaca (518,421; 6.1%) y Puebla (499,619; 5.9%) como principales entidades federativas con mayor cantidad de ovinos ([SIACON, 2014](#)).

### 2.2. Control de los eventos reproductivos

Las ovejas son poliéstricas estacionales, es decir, presentan un patrón estacional de la reproducción, para asegurar que los corderos nazcan en primavera. Durante la época reproductiva en la oveja, la duración del ciclo estral es de 16 a 18 días, y cada año se presentan dos etapas fisiológicas bien definidas ([Barrell et al., 1992](#)); la primera, descrita como una época de anestro estacional (días largos), con ausencia de ciclos estrales regulares, receptividad sexual y ovulación en la hembra; en el macho, cesa la espermatogénesis y la libido. La segunda, conocida como época reproductiva (días cortos), que se caracteriza por la ocurrencia de ciclicidad estral,

conducta de estro y ovulación en la hembra; en el macho, se restablece la espermatogénesis y el deseo sexual (Malpaux *et al.*, 1997). En ovejas, los ciclos largos (mayores de 17 d) se relacionan con una prolongada vida media del cuerpo lúteo (CL; Bartlewski *et al.*, 1999), y los ciclos cortos (menores de siete días), ocurren al comienzo de la época reproductiva y durante el período postparto. La forma y el tamaño del CL varía y depende del origen dentro de la corteza ovárica, así los ciclos estrales mayores de 17 d (anormales) inician por el mantenimiento de un CL maduro en lugar de una ovulación silenciosa, mientras que un ciclo estral menor de siete días (corto), se asocia con la regresión temprana del CL (Oldham y Lindsay, 1980).

### 2.3. Gonadotropinas

Las hormonas foliculoestimulante (FSH) y luteinizante (LH) favorecen la maduración gonadal y la esteroidogénesis, además capacitan al organismo para reproducirse. La FSH en la oveja, estimula en las células de la granulosa la conversión de los andrógenos a estrógenos. Los estrógenos producidos por el folículo, actúan en conjunto con la FSH y promueven el desarrollo folicular. La FSH estimula en el folículo la secreción de inhibina, la cual ejerce retroacción negativa en la adenohipófisis e inhibe la secreción de la FSH (Scaramuzzi *et al.*, 2011). Cuando el folículo presenta avance en su desarrollo, la concentración de la FSH disminuye, pero continúa su desarrollo por los receptores de la LH en las células de la granulosa, para estimular la maduración final del folículo. La LH rompe el folículo y por lo tanto, ocurre la ovulación (Weeb *et al.*, 2002). El pico preovulatorio de la LH inicia la luteinización de las células foliculares y origina un CL que secreta progesterona ( $P_4$ ). Por otro lado, si el óvulo no se fecundó, el CL se encoge gradualmente, deja de secretar  $P_4$  y comienza un nuevo ciclo estral, debido a que la  $P_4$  ejerce una retroacción negativa en la secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), al inhibir el desarrollo folicular y la ovulación (Thiéry y Martin, 1991). La GnRH controla la liberación de las hormonas gonadotrópicas hipofisarias FSH y LH. Las neuronas productoras de la GnRH se localizan en el área preóptica y en el núcleo ventromedial del hipotálamo, se libera por los axones de las neuronas en la eminencia media, el la cual se origina el sistema porta hipotalámico

adenohipofisario (Caldani *et al.*, 1988). En la hembra, la GnRH es secretada en forma tónica, la cual produce un mayor o menor desarrollo folicular, y en forma cíclica, produce la secreción de un pico preovulatorio de la GnRH, inducido por los estrógenos de los folículos maduros, lo cual genera el pico preovulatorio de la LH, y por lo tanto, la ovulación (Caraty *et al.*, 2002).

Un incremento en la concentración de estrógenos tiene un efecto positivo de retroacción en el hipotálamo, e induce la liberación del pico de la GnRH, el cual es acompañado por el pico preovulatorio de la LH y la FSH. Este pico dura 6 a 12 h y es responsable de la ovulación (Amstalden *et al.*, 2011). La frecuencia de los pulsos de la LH, depende de la respuesta de la retroacción negativa del estradiol ( $E_2$ ); la respuesta es baja durante la época reproductiva, aumenta en la transición a la época de anestro, permanece elevada al inicio de la siguiente época reproductiva y vuelve a disminuir (Foster y Olster, 1985). Durante el fotoperiodo, la melatonina modula la frecuencia de secreción de los pulsos de la LH en las ovejas, cuando la sensibilidad al hipotálamo cambia por la retroacción negativa del  $E_2$  (Gallegos-Sánchez *et al.*, 1997).

#### 2.4. Pubertad en la oveja

La pubertad es un proceso gradual, durante el cual los animales alcanzan la competencia reproductiva con respecto a la fisiología, la morfología y el comportamiento. El inicio de la pubertad en los pequeños rumiantes difiere entre sexos, debido a la diferenciación sexual temprana en el control de los sistemas de retroacción esteroidal y por lo tanto, en la secreción de la GnRH. Los factores determinantes de la pubertad incluyen a los genéticos, las señales endógenas, como el balance de energía y las señales ambientales, cuya interacción dinámica es responsable del inicio de la pubertad. Ésta afecta a la reproducción a través de la edad al primer parto, lo cual repercute en la posterior vida reproductiva y la productividad de los pequeños rumiantes (Valasi *et al.*, 2012).

Foster y Jackson (2006) consideraron que el primer apareamiento resulta en una gestación y el primer estro como definición de la pubertad. Así, los ciclos reproductivos inician a los seis meses de edad. Desde una perspectiva neuroendócrina, la pubertad se define como la reactivación del sistema de secreción de la GnRH, la cual conduce a un incremento en la liberación pulsátil de la GnRH, que estimula la liberación de las gonadotropinas, y a su vez, la actividad gonadal (Ebling, 2005). En ovejas prepúberes, la secreción de la GnRH es muy sensible a la retroacción positiva del E<sub>2</sub>, la cual permanece inactiva en ausencia de las concentraciones del E<sub>2</sub> (Foster y Karsch, 1975), y como consecuencia pueden activar el mecanismo para aumentar la frecuencia de los pulsos de la LH (Foster, 1984). Entonces, la pubertad en ovejas se debe a la disminución en la retroacción negativa del E<sub>2</sub>, la cual resulta al aumentar frecuencia de los pulsos de la GnRH, y posteriormente, en los pulsos de la LH (Foster y Jackson, 2006). Por tanto, un pulso de la LH siempre va precedido por un pulso de la GnRH, y el E<sub>2</sub> además de estimular la liberación de la GnRH por el hipotálamo, también lo hace para la secreción de la LH por la hipófisis (Figura 1).

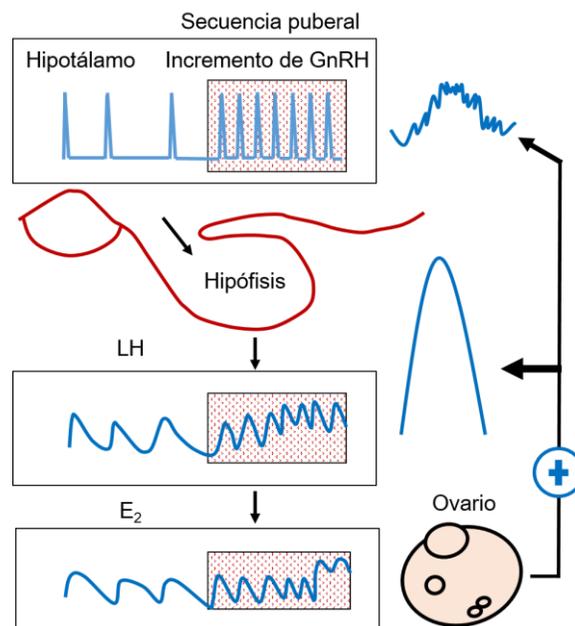


Figura 1. Relación entre la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), la hormona luteinizante (LH) y el estradiol (E<sub>2</sub>) durante la transición de la pubertad en corderas (área sombreada; Adaptado de Foster y Jackson, 2006).

En la hembra prepúber, los pulsos de la LH ocurren y su patrón refleja la de su estímulo trófico, la GnRH. En comparación con ovejas adultas, las corderas presentan menor tasa de ovulación, tasa de concepción y supervivencia embrionaria (Annett y Carson, 2006). En donde, el factor nutricional, influye en el inicio de la pubertad y tiene un efecto importante en la madurez sexual, en la edad al sacrificio y en el sistema de producción; variables de respuesta que están relacionados con el tipo de alimentación en las ovejas (Hernández *et al.*, 2011). No obstante, el aumento excesivo de peso y la cantidad de adipocitos durante el periodo prepúber, están asociados con el inicio acelerado de la pubertad en las hembras (Amstalden *et al.*, 2011). La alimentación con *Cynodon dactylon* (a libre acceso) más un concentrado, favoreció la pubertad en corderas Pelibuey de 6 a 8 meses de edad, con un peso de 27 a 35 kg (Perón, 2010), lo cual indica que las ovejas alcanzan la pubertad cuando presentan el 60% de su peso corporal adulto, en respuesta al aumento en la cantidad de energía y proteína en la dieta. Aunque, estos indicadores pueden variar entre razas y por el genotipo de oveja (Villasmil-Ontiveros *et al.*, 2011).

## 2.5. Anestro postparto en la oveja

La secreción pulsátil de la GnRH está correlacionada con la secreción de la LH; es decir, que un pulso de la GnRH provoca un pulso de la LH (Karsch *et al.*, 1993). Durante el periodo postparto, la adenohipófisis disminuye el contenido de la LH y la FSH al final de la gestación y también durante el periodo postparto temprano, debido a una fuerte retroacción negativa de los estrógenos. El contenido de la GnRH en el hipotálamo es normal, pero la adenohipófisis es menos sensible a la liberación de la LH inducida por la GnRH durante este período (Nett *et al.*, 1988). El intervalo entre el parto y la reanudación de la actividad reproductiva en ovejas, es uno de los factores naturales que determinan la frecuencia de la parición y la productividad total en ovejas (Ungerfeld y Sánchez-Dávila, 2012). La anovulación en la hembra postparto, es una estrategia adaptativa que promueve la supervivencia de las crías (Nowak *et al.*, 2000); durante este periodo, la lactancia suprime la actividad ovárica, y en ovejas, el anestro postparto parece ser corto, y coincide con el inicio de la época de anestro (Arroyo *et al.*, 2009). Otros estudios indican que la restricción del contacto entre la

madre y la cría durante el período posparto en ovejas, reduce el intervalo entre el parto, el primer estro y la ovulación, sin que se afecte el desarrollo del cordero (Morales-Terán *et al.*, 2004; Pérez-Hernández *et al.*, 2009), debido a que el amamantamiento afecta la actividad reproductiva porque aumenta la sensibilidad al hipotálamo hacia la inhibición del E<sub>2</sub>, en el cual intervienen los péptidos opioides endógenos y los glucocorticoides (Gordon *et al.*, 1987), lo cual produce una inhibición en la liberación de la GnRH y la LH, los folículos ováricos no crecen, y si lo hacen, no llegan a la dominancia y se atresian (Schirar *et al.*, 1990). No obstante, Castillo-Maldonado *et al.* (2013) reportaron 100% de estros en ovejas Pelibuey a los 35 d postparto en ausencia o en presencia del control en la lactancia.

#### 2.6. Protocolos de inducción y sincronización del estro en la oveja

La reproducción de los pequeños rumiantes puede controlarse con varios métodos desarrollados en las últimas décadas. Algunas de ellas implican la administración de hormonas que modifican el ciclo estral. Por ejemplo, la progesterona o sus análogos se basan en la fase lútea, simulan la acción de la progesterona natural producida por el CL después de la ovulación, la cual es responsable para controlar la secreción de la LH. Las prostaglandinas (PGF<sub>2</sub> $\alpha$ ) son una alternativa para controlar la reproducción mediante la eliminación del CL y la inducción de la siguiente fase folicular con la ovulación (Abecia *et al.* 2012).

La hipótesis de que una alteración en los patrones de liberación de la LH y la ovulación son la causa de fallas reproductivas, cuando el estro en las ovejas se sincroniza con PGF<sub>2</sub> $\alpha$  (Barrett *et al.*, 2002). Sin embargo, un protocolo incluyó un tratamiento con la aplicación de la GnRH 36 h después de aplicar PGF<sub>2</sub> $\alpha$ , lo cual resultó en la inducción del pico de la LH, la ovulación ocurrió dentro de las 48 h, y se formó un CL completo y funcional (Rubianes *et al.*, 1997). Por lo tanto, la administración de la GnRH alrededor del apareamiento, es una opción práctica para mejorar el pico preovulatorio de la LH y sincronizar la ovulación (Reyna *et al.*, 2007), la fecundidad (Fernández-Abella *et al.*, 2004), o la prolificidad (Martemucci y D'Alessandro, 2011); como con los protocolos de P<sub>4</sub> en ovejas. Los tratamientos

hormonales también funcionan para inducir el estro en ovejas prepúberes, para adelantar su apareamiento (Knights *et al.*, 2002; 2011); además, se considera reutilizar los dispositivos intravaginales liberadores de P<sub>4</sub> (CIDR®) para determinar la respuesta ovárica, la tasa de gestación en ovejas inseminadas con un protocolo a corto plazo (cinco a siete días de tratamiento); con la finalidad de generar un folículo preovulatorio más joven y saludable, y reducir la posibilidad de la ovulación de un folículo persistente (Menchaca y Rubianes, 2004). La sincronización del estro y de la ovulación en las ovejas, no solo depende del control de la fase luteal del ciclo estral, sino también del grado de maduración de los folículos ováricos durante la fase folicular (Uribe-Velásquez *et al.*, 2008), porque el crecimiento folicular es independiente de la fase del ciclo estral (Goodman e Inskeep, 2006).

## 2.7. Métodos naturales en la reproducción de pequeños rumiantes

El manejo reproductivo de los animales mejora para aumentar la productividad y la eficiencia reproductiva, a partir de métodos no hormonales que resulten en la producción animal "limpia, verde y ética". Esto significa optar por prácticas que minimicen o eviten los tratamientos químicos y hormonales en los animales, al realizar prácticas que no comprometan el bienestar animal. Lo cual, no resulta difícil, debido a que estas prácticas están basadas en una mejor comprensión de la fisiología y el comportamiento de los animales; y por lo tanto, mejoran la productividad y la rentabilidad (Martin *et al.*, 2004). Para ser "limpia", se necesita adoptar prácticas que minimicen el uso de tratamientos hormonales, drogas y productos químicos en los animales. Para ser "verde", se requiere asegurar que las prácticas sean ambientalmente sostenibles. Para ser "ética", los productores, transportadores y empleados de los rastros, necesitan evitar prácticas que comprometan el bienestar de los animales (Martin, 2009).

## 2.8. Efecto macho

El "efecto macho" se define como un estímulo social que actúa en el reinicio de la actividad reproductiva en la oveja. Los primeros estudios se reportaron por Underwood *et al.* (1944), quienes relacionaron las fechas de la introducción del

carnero al rebaño con la época de partos. El “efecto macho” funciona en ovejas que no ovulan, ya sea porque son prepúberes, lactantes o se encuentran en el anestro estacional (Hawken y Martin, 2012), aunque en ovejas cíclicas, la introducción del carnero estimula un incremento en la secreción pulsátil de la LH (Hawken *et al.*, 2007).

Esta estrategia se encuentra entre los diferentes enfoques utilizados para manipular la reproducción durante la etapa anovulatoria, tiene la ventaja de ser barato, de fácil aplicación y es la más aceptada por los consumidores. Los que estudiaban la introducción del macho, observaron que frecuentemente, había dos picos de actividad estral como respuesta al ‘efecto macho’; el primero alrededor de los 18 días después introducir al carnero y el segundo, después de los 22 a 24 días (Knight *et al.*, 1983; Figura 2).

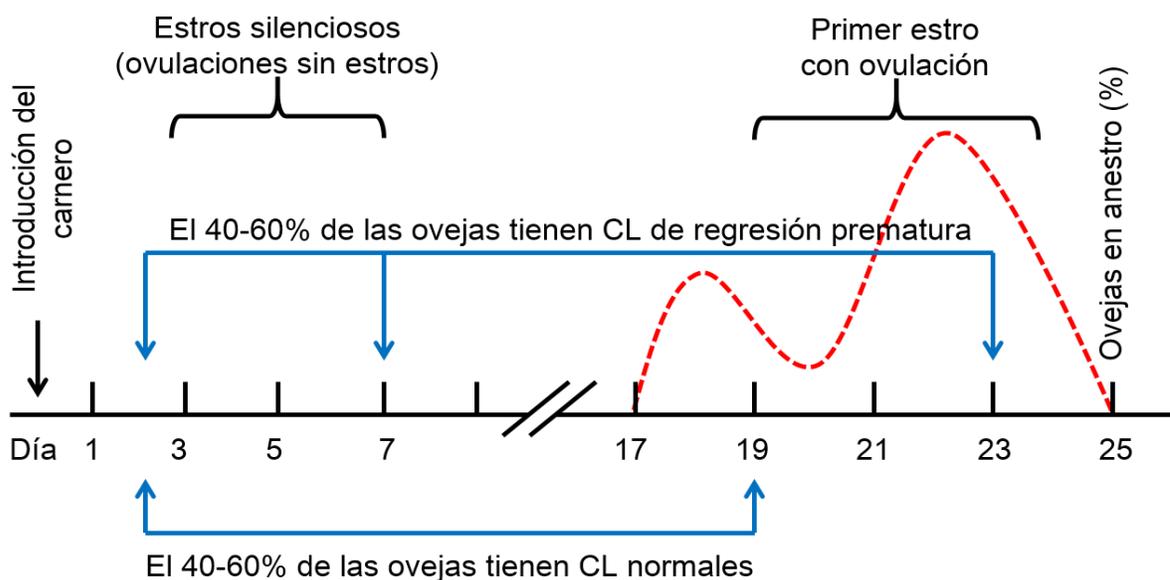


Figura 2. Inicio del estro y la ovulación por la presencia del carnero con respecto a la regresión prematura del cuerpo lúteo (CL; Adaptado de Knight *et al.*, 1983).

La introducción del macho induce un rápido incremento en la frecuencia y amplitud de los pulsos de la LH, lo cual estimula el desarrollo folicular y provoca un pico preovulatorio de la LH, e induce la ovulación (Martin *et al.*, 1986; Figura 3).

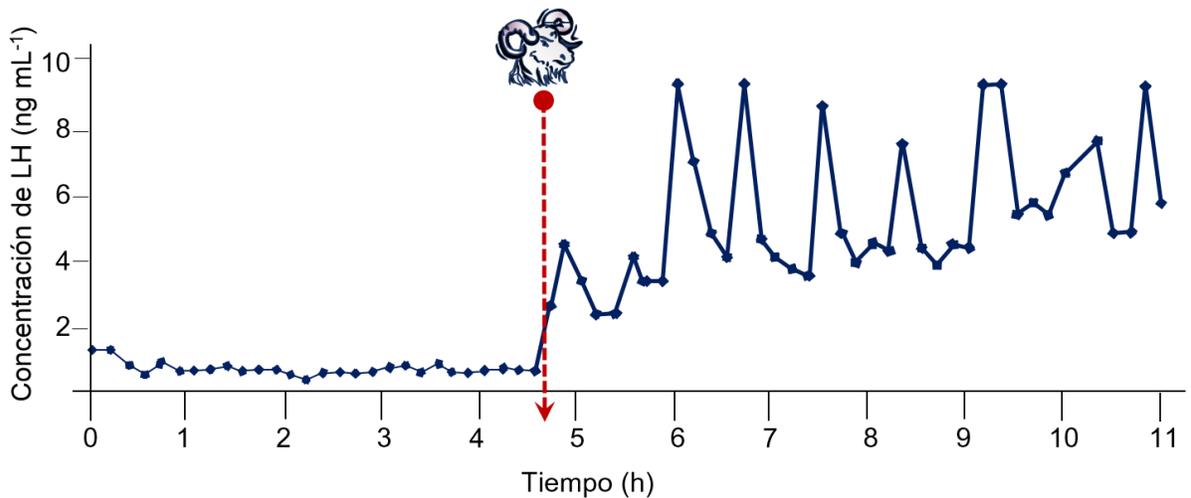


Figura 3. Secreción de la hormona luteinizante (LH) inducida por la introducción del carnero en ovejas anéstricas (Adaptado de [Martin et al., 1986](#); Fabre-Nys y Martin, datos no publicados).

Después de la introducción del macho, la descarga preovulatoria de la LH aparece de 3 a 30 h y la ovulación ocurre de 24 a 60 h. Sin embargo, la ovulación inducida por el 'efecto macho' no va precedida por signos de estro, se caracteriza por ciclos de corta duración y baja secreción de P<sub>4</sub> luteal; es decir, se forman CL de vida media corta, se observan "estros silenciosos" y posteriormente, se establecen ciclos estrales normales y fértiles (Figura 4).

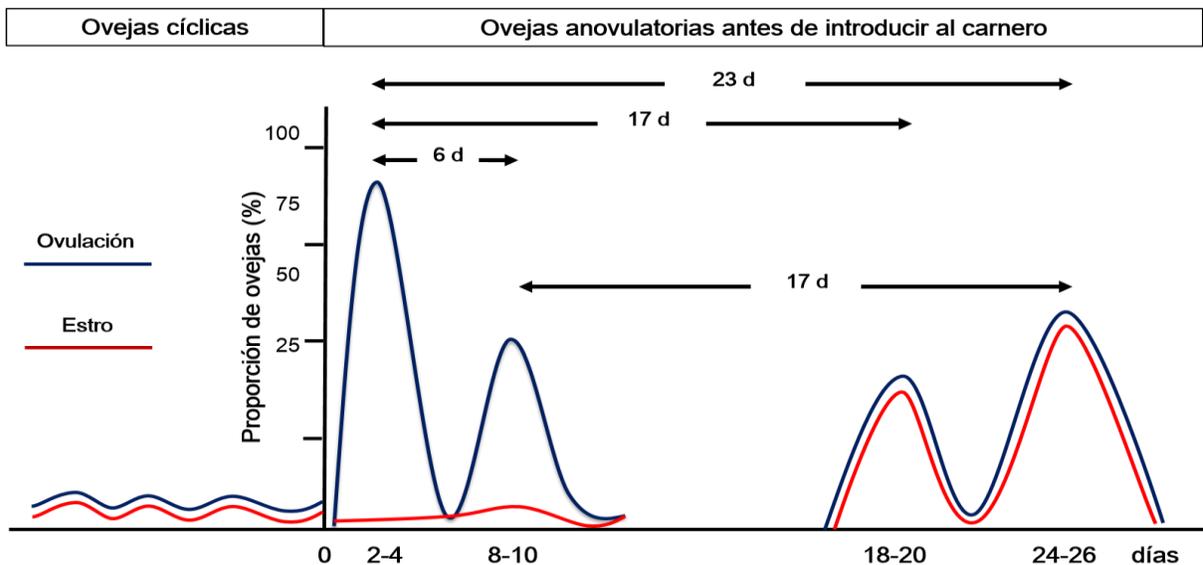


Figura 4. Presentación de la ovulación y el estro en respuesta al 'efecto macho' en ovejas anéstricas (Adaptado de [Thimonier et al., 2000](#)).

El estímulo de las señales socio-sexuales, se establece por medio de los sentidos auditivo, olfativo y visual; en el cual intervienen la dominancia, el aislamiento previo de los sexos y la etología reproductiva (Gelez y Fabré-Nys, 2004). Por tanto, los estímulos externos actúan recíprocamente en los centros cerebrales que controlan el sistema reproductivo, convergen cerca del área preóptica, donde se controla la producción de la GnRH para la liberación de gonadotropinas; mientras que el área retroquiasmática lateral, controla el anestro estacional y la respuesta a los estímulos socio-sexuales parecen localizarse en el hipotálamo medio basal (Martin *et al.*, 1986).

## 2.9. Nutrición focalizada

El nivel nutricional es un factor ambiental que influye en la reproducción en ovejas. La interacción entre la nutrición y la reproducción implica en su comportamiento reproductivo (Lindsay, 1976). Así, una disminución en el aporte nutricional se refleja en la pérdida de peso y la condición corporal, lo cual retrasa el inicio de la pubertad, aumenta el intervalo de concepción postparto, interfiere con la ciclicidad ovárica normal por la disminución de la secreción de gonadotropinas y aumenta la infertilidad (Boland *et al.*, 2001).

La nutrición también regula el inicio del ciclo estral, el desarrollo folicular, la calidad del ovocito y el desarrollo embrionario temprano (Scaramuzzi *et al.*, 2006). Los efectos estático, dinámico e inmediato de la nutrición, afectan la secreción de las gonadotropinas e influyen en el desarrollo folicular y la tasa ovulatoria (Somchit-Assavacheep, 2011; Figura 5). El efecto estático, es un aumento en la tasa ovulatoria de ovejas pesadas en comparación con ovejas ligeras. El efecto dinámico, es el aumento de la tasa ovulatoria debido a un aumento en el peso en vivo o condición corporal, durante un periodo corto, por ejemplo tres semanas. El efecto inmediato o agudo, es un aumento en la tasa ovulatoria sin observarse cambios en el peso vivo o condición corporal de las ovejas (Scaramuzzi *et al.*, 2006). No obstante, el mecanismo del efecto nutricional en la foliculogénesis no está asociado con la cantidad de nutrientes, sino con el efecto de señalización de nutrientes específicos,

como las hormonas metabólicas: la insulina, el factor de crecimiento similar a la insulina I y la hormona del crecimiento (Somchit-Assavacheep, 2011).

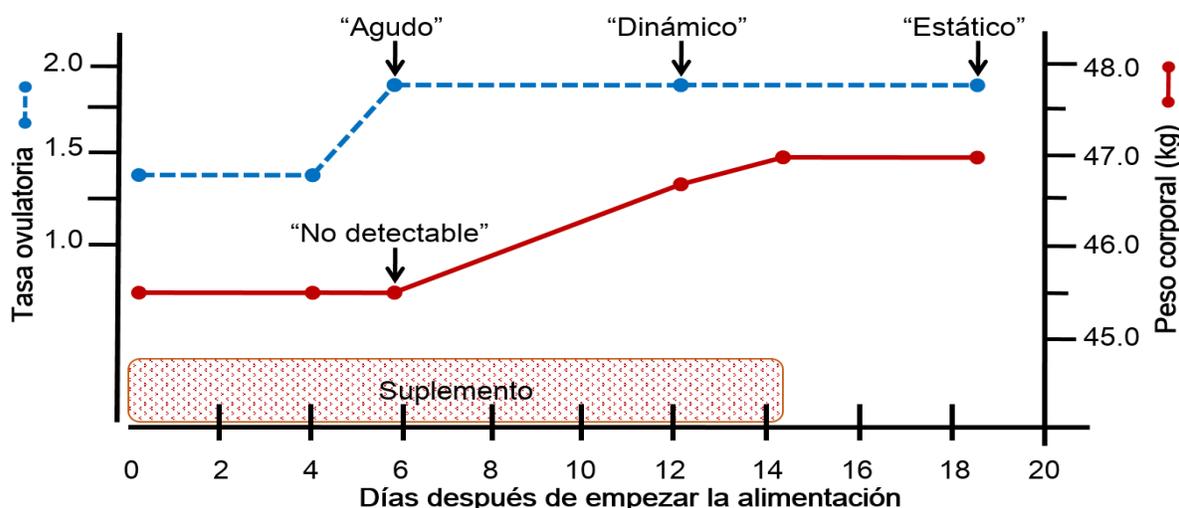


Figura 5. Efectos de la nutrición en la tasa ovulatoria en ovejas (Adaptado de Scaramuzzi *et al.*, 2006).

El efecto de la cantidad de proteína y energía en la dieta para la función reproductiva causa controversia, porque la degradación ruminal de la proteína de la dieta junto con la síntesis microbiana de la digestión ruminal de carbohidratos, plantea problemas (Downing y Scaramuzzi, 1991). No obstante, Clark (1934) demostró que alimentar a las ovejas con mayores cantidades de grano aumenta la tasa ovulatoria. El alto contenido de energía del grano se considera el estímulo responsable de este aumento (Howland *et al.*, 1966). Mayor contenido de grasa o almidón en la dieta, incrementará la tasa ovulatoria con respecto a la dieta base o con bajo contenido de grasa o almidón (Memon *et al.*, 1971).

Fletcher (1981) encontró que el aumento de la proteína sólo estimuló la tasa ovulatoria en ovejas previamente alimentadas con bajos niveles de proteína. La tasa ovulatoria aumentó cuando la proteína cruda disponible incrementó de 35 a 70 g d<sup>-1</sup>, pero cuando subió de 70 a 150 g d<sup>-1</sup>, no aumentó. Lindsay (1976) consideró que el alto contenido de proteínas en el grano de lupino fue el estímulo que aumentó la tasa ovulatoria. Downing y Scaramuzzi (1991) reportaron que los efectos nutricionales a

corto plazo en la tasa ovulatoria son mediados por el cambio en el nivel de atresia y no se relaciona con el aumento en la concentración de gonadotropinas.

La tasa ovulatoria está relacionada con la condición corporal, la cual se refiere a la cantidad de grasa acumulada en el cuerpo relacionada con la masa muscular y representa para el animal, un estado de bienestar y confort que indica la etapa apta para reproducirse (Manzano *et al.*, 1999). La escala utilizada en ovinos es de 1 a 5 (1= emaciada, 5= obesa) y consiste en presionar con las manos sobre las apófisis espinosas de las vértebras lumbares y determinar la profundidad del músculo *longissimus* (Russel *et al.*, 1969). Sin embargo, esta medición es subjetiva y se recomienda usar ultrasonido para mediciones más precisas, aunque se requiere de una persona especializada en el manejo del mismo, y el conocimiento de las áreas y promedios en las mediciones (McLaren *et al.*, 1991).

En ovejas, se relaciona el peso vivo con la tasa ovulatoria, debido a los cambios en la retroacción esteroideal regulan el efecto nutricional en la tasa ovulatoria (Downing y Scaramuzzi, 1991). La concentración de receptores de estrógeno en el útero de ovejas ovariectomizadas varía inversamente con el peso vivo y, puesto que la concentración de receptores de estrógenos se determina por el estrógeno en sí, los resultados sugieren que el peso vivo afecta los niveles de estrógeno (Atkinson y Adams, 1988).

#### 2.10. Aminoácidos neuroexcitadores y su relación con la reproducción animal

La eficiencia reproductiva de las ovejas depende de la respuesta ovárica a la secreción de la LH y la FSH en la adenohipófisis, debido a la secreción de GnRH en el hipotálamo. Esta comunicación endocrina hipotalámica adenohipofisiaria se favorece por la acción de compuestos que actúan como neurotransmisores, cuya actividad se incrementa con aminoácidos estimuladores (AAE; Brann y Mahesh, 1995). Los AAE se consideran neurotransmisores del sistema nervioso central (SNC) porque regulan la excitación sináptica dentro del cerebro (Urbanski *et al.*, 1994). La capacidad de las neuronas para sintetizar un neurotransmisor específico depende de

la disponibilidad de precursores obtenidos de la dieta. Se consideran algunas moléculas como neurotransmisores que actúan en el SNC (Figura 6) y se caracterizan por ser compuestos nitrogenados derivados a partir de proteínas de la dieta ([Downing y Scaramuzzi, 1991](#)).

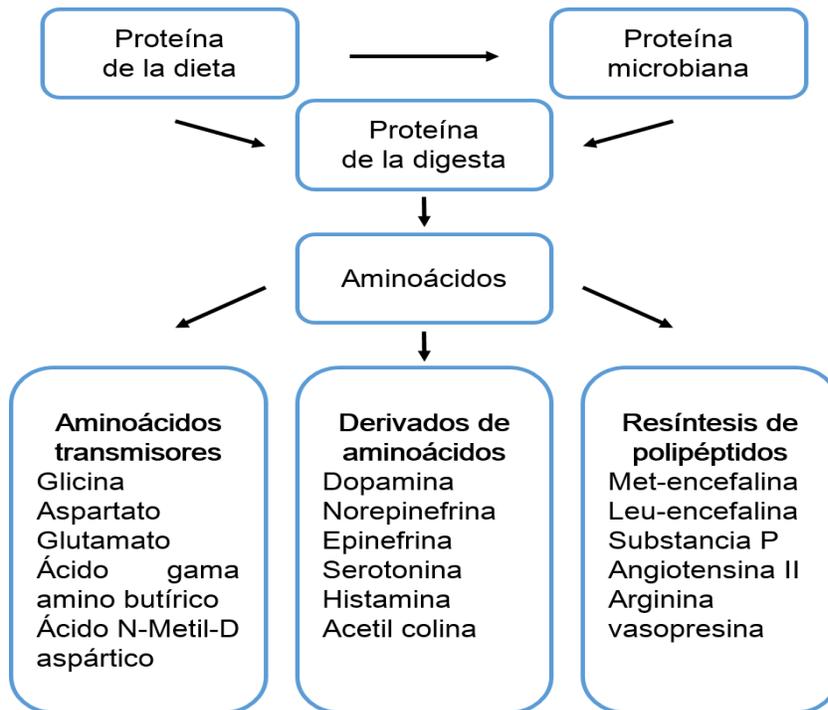


Figura 6. Aminoácidos biológicamente activos y moléculas derivadas de aminoácidos disponibles de la proteína digerible (Adaptado de [Lovenberg, 1986](#)).

Los AAE regulan la secreción pulsátil de la LH en roedores, como los pulsos de la LH son dependientes de los pulsos de la GnRH, los AAE regulan el generador de pulsos de la GnRH en el hipotálamo y ayudan en la sincronización de los pulsos en la GnRH ([Brann y Mahesh, 1994](#)). Se localizan en varios núcleos hipotalámicos y se sugiere que participan en el inicio de la pubertad, el control de la pulsatilidad de la GnRH, el pico preovulatorio de las gonadotropinas, además de participar en la respuesta a ciertas situaciones de estrés ([Zamorano et al., 1998](#)). La glutamina, el glutamato y la arginina, regulan la expresión génica, la señalización celular, las respuestas antioxidantes, y la inmunidad. Además, el glutamato, la glutamina, y el aspartato son los principales aportes metabólicos para el intestino delgado, y junto con la glicina, regulan la función neurológica ([Wu, 2010](#)).

El L-glutamato (Glu) es el neurotransmisor más frecuente en el SNC de los mamíferos y es el responsable de la mediación en la señalización estimulatoria (Balázs *et al.*, 2006). Su función central se relaciona con la acción endócrina en el hipotálamo para producir el pico preovulatorio de la LH en la rata (Brann y Mahesh, 1997).

El ácido D-aspártico (D-Asp) se convierte en N-metil-ácido D-aspártico (NMDA), un neuromodulador asociado con la actividad sexual y la pubertad, por lo cual se determinaron concentraciones de D-Asp y NMDA en las glándulas endócrinas y otros tejidos en ovejas después de la administración de D-Asp para evaluar su respuesta en la actividad reproductiva mediante la determinación de P<sub>4</sub> o en los pulsos de la LH en presencia o ausencia de benzoato de E<sub>2</sub> (Boni *et al.*, 2006).

La L-arginina es un aminoácido básico que cruza muy bien la barrera sanguino-cerebral, ahí se metaboliza a ornitina, y ésta se convierte a glutamato (Wroblewski *et al.*, 1985), pero poco se sabe acerca de su efecto en la secreción de la LH en corderos. Aunque, Recabarren *et al.* (1996), encontraron que la infusión intravenosa de 350 mM de L-arginina estimuló la secreción de la LH en ovejas prepúberes, lo cual sugiere que este aminoácido puede ser un mediador para activar el eje hipotalámico adenohipofisario durante el desarrollo prepuberal en la oveja (Hamra *et al.*, 2003).

### III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los protocolos de manejo reproductivo tradicionales incluyen la aplicación de hormonas exógenas, que junto con la asesoría técnica, implican un gasto para mejorar la productividad en un rebaño ovino. Sin embargo, la mayoría de los sistemas de producción ovina, se caracterizan por ser familiares, con escasos recursos económicos y con bajo nivel de tecnología, lo cual limita las posibilidades para realizar un manejo reproductivo capaz de aumentar la eficiencia productiva del rebaño a bajo costo.

El conocimiento de la bioestimulación y la acción de metabolitos energéticos y proteínicos, así como de los aminoácidos neuroestimuladores, generan alternativas de manejo de manera técnica y económica, capaces de mejorar la eficiencia productiva de un rebaño, con la ventaja de controlar los eventos reproductivos a partir de métodos naturales no hormonales, basados en los efectos socio-sexuales y de la nutrición ([Scaramuzzi et al., 2013](#)). Los primeros se describen como una secuencia de eventos fisiológicos y endócrinos de ovejas en anestro, en respuesta a las feromonas de un carnero sexualmente activo ('efecto macho') que culmina en la ovulación y en la formación de un cuerpo lúteo ([Hawken y Martin, 2012](#)). Los efectos nutricionales pueden observarse al suplementar una ración con aminoácidos neuroestimuladores ([Wu, 2010](#)), energía ([Schneider et al., 2012](#)), proteína ([Somchit-Assavacheep, 2011](#)) o una dieta integral completa ([Kara et al., 2010](#)).

Por lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue evaluar la respuesta del 'efecto macho' y el aporte de metabolitos neuroestimuladores, energéticos y proteínicos en la inducción del estro y la ovulación durante la etapa prepuberal, o en la sincronización del estro postparto en ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo, para considerarlos como estrategias de manejo y mejorar la eficiencia reproductiva en los ovinos Pelibuey.

## IV. ESTUDIOS REALIZADOS

### 4.1. INDUCCIÓN DE LA OVULACIÓN Y SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO EN OVEJAS PELIBUEY PREPÚBERES CON ‘EFECTO MACHO’ Y UN RECONSTITUYENTE ENERGÉTICO

#### 4.1.1. Resumen

Se realizaron dos experimentos en ovejas Pelibuey prepúberes, con el objetivo de evaluar el ‘efecto macho’ (EM) y la acción de un reconstituyente energético comercial (REC, Metabolase®) para inducir la ovulación y caracterizar el pico preovulatorio de la hormona luteinizante (LH; EXP1) y para comparar la eficiencia reproductiva en la sincronización con progestágenos (CIDR®; EXP2). En el EXP1, se utilizaron 46 ovejas las cuales se asignaron al azar a uno de cuatro tratamientos, derivados de un arreglo de dos factores (REC y EM), cada uno a dos niveles (sin: s y con: c): T1, n=12: ovejas testigo, sin dosis del REC y sin EM (sRECsEM); T2, n=12: ovejas suministradas con 100 mL del REC (cRECsEM); T3, n=10: ovejas con EM durante 56 h (sRECcEM); y T4, n=12: ovejas suministradas con 100 mL del REC y con EM durante 56 h (cRECcEM). La actividad ovárica (diámetro y número de folículos) y la tasa ovulatoria (TO; cantidad de cuerpos lúteos: CL) se determinaron por laparoscopia; la primera ovulación, se confirmó con la presentación del pico preovulatorio de la LH. En el EXP2, 35 ovejas se asignaron al azar uno de dos tratamientos: T1, n=18: ovejas con EM y suministradas con 100 mL del REC, previo a la inserción del progestágeno (EM+REC+CIDR); y T2, n=17: ovejas suministradas con 100 mL del REC, previo a la inserción del progestágeno (REC+CIDR). El estímulo del carnero y el suministro del REC se realizaron 15 d previos a la inserción del progestágeno. Se evaluaron las variables respuesta al estro, porcentaje de gestación y de parición, prolificidad, fecundidad y cambio de peso. En el EXP1, la actividad ovárica fue similar ( $p>0.05$ ); sin embargo, el ‘efecto macho’ y la interacción con el reconstituyente energético aumentaron la TO ( $p<0.05$ ; 0.70 y 0.75, respectivamente). La incidencia, el inicio, la duración y la amplitud del pico preovulatorio de la LH fueron similares ( $p>0.05$ ). En el EXP2, el ‘efecto macho’ no influyó ( $p>0.05$ ) en la respuesta al estro, pero adelantó el inicio del estro ( $p<0.05$ ;

EM+REC+CIDR: 32.3±3.8 h y REC+CIDR: 62.1±3.6 h). No se encontraron diferencias ( $p>0.05$ ) en el porcentaje de retorno al estro, en la tasa de gestación y de parición, y en la fecundidad; pero la prolificidad fue diferente ( $p<0.05$ ; EM+REC+CIDR: 1.6 crías y REC+CIDR: 1.0 crías). En la inducción a la ovulación, no se observaron diferencias ( $p>0.05$ ) en el peso de las ovejas por el 'efecto macho', sin embargo, la acción del reconstituyente energético y su interacción con el 'efecto macho' influyeron ( $p<0.05$ ) en el cambio de peso durante el periodo de evaluación. En la sincronización del estro con progestágeno, el 'efecto macho' no afectó ( $p>0.05$ ) el peso de las ovejas suministradas con el reconstituyente energético, pero influyó ( $p<0.05$ ) en el cambio de peso durante el periodo de evaluación. El 'efecto macho' y su interacción con el reconstituyente energético, inducen el pico preovulatorio de la LH y la primera ovulación. El estímulo previo con 'efecto macho' en la sincronización con progestágeno, adelanta el inicio del estro y aumenta la prolificidad en ovejas Pelibuey prepúberes suministradas con un reconstituyente energético. El 'efecto macho' y la administración del reconstituyente energético no afectan el peso a la primera ovulación o al primer estro sincronizado.

Palabras clave: LH, carnero, aminoácidos, pubertad, tasa ovulatoria.

#### 4.1.2. Abstract

In order to evaluate the 'male effect' (ME) and the action of a commercial energy tonic (CET, Metabolase®) to induce ovulation and characterize the preovulatory of luteinizing hormone (LH; EXP1) surge and to compare the reproductive efficiency in response to synchronization with progestogen (CIDR®; EXP2), two experiments were conducted in prepubertal Pelibuey ewes. In EXP1, 46 lamb ewes were randomized to one of four treatments derived from an arrangement of two factors (CET and ME), each at two levels (without: wo and with: w): T1, n=12: control ewes, without CET or ME (woCETwoME); T2, n=12: 100 mL of CET (wCETwoME) were supplied in ewes; T3, n=10: ewes with ME during 56 h (woCETwME); and T4, n=12: 100 mL of CET were supplied in ewes with ME during 56 h (wCETwME). Ovarian activity (diameter and number of follicles) and ovulatory rate (OR, number of corpora lutea: CL) were determined by laparoscopy; first ovulation was confirmed with the preovulatory LH

peak. In EXP2, 35 ewes were randomly assigned one of two treatments: T1, n=18: ewes with ME and 100 mL of CET were supplied them, before the progestogen insertion (ME+CET+CIDR); and T2, n=17: 100 mL of CET were supplied in ewes before the progestogen insertion (CET+CIDR). The ram stimuli and the CET supply were performed 15 d before progestogen insertion. Estrous response, pregnancy and calving rate, prolificacy, fecundity and weight change were evaluated. In EXP1, ovulation was similar among treatments ( $p>0.05$ ); however, the "ram effect" and its interaction with energy tonic increased OR ( $p<0.05$ ; 0.70 and 0.75, respectively). The incidence, onset, duration and amplitude of preovulatory LH peak were similar ( $p>0.05$ ). In EXP2, the 'male effect' did not influence in estrous response ( $p>0.05$ ), but it advanced the estrous onset ( $p<0.05$ ; ME+CET+CIDR:  $32.3\pm 3.8$  h and CET+CIDR:  $62.1\pm 3.6$  h). No differences in return to estrous, pregnancy and calving rate and fertility were found ( $p>0.05$ ); but the prolificacy was different ( $p<0.05$ ; ME+CET+CIDR: 1.6 lambs and CET+CIDR: 1.0 lambs). No differences on the ewes's weight with 'male effect' in ovulation induction ( $p>0.05$ ); however, both energy tonic action and its interaction with the 'male effect' influenced in weight change during the evaluation period ( $p<0.05$ ). In estrous synchronization with progestogen, the 'male effect' did not affect ewes's weight wich were supplied with energy tonic ( $p>0.05$ ), but it influenced in weight change during the evaluation period ( $p<0.05$ ). The 'male effect' and its interaction with energy tonic induces the preovulatory LH peak and the first ovulation.

Keywords: LH, ram, amino acids, puberty, ovulation rate.

#### 4.1.3. Introducción

El inicio de la pubertad en las hembras se caracteriza por la activación del eje hipotalámico hipofisiario gonadal que precede al establecimiento de la actividad ovárica cíclica ([Amstalden et al., 2011](#)), y en ovejas prepúberes puede modificarse con el suministro de hormonas exógenas para inducir el comportamiento del estro, el pico preovulatorio de la LH y la ovulación ([Letelier et al., 2011](#)), o bien para acelerar su inicio, sincronizarlo y mejorar la eficiencia reproductiva ([Abecia et al., 2012](#)). Los eventos reproductivos responden a factores ambientales (fotoperiodo, nutrición,

estrés y bioestimulación). Así, el control de algunos o todos estos factores, permiten que la reproducción en los ovinos ocurra sin hormonas exógenas (Scaramuzzi y Martin, 2008). El conocimiento de estos factores se pueden favorecer en mejor respuesta a los efectos socio-sexuales y la nutrición (Scaramuzzi *et al.*, 2013). Los primeros, se describen como una secuencia de eventos fisiológicos y endócrinos de ovejas en anestro, en respuesta a la presencia de un carnero sexualmente activo ('efecto macho') que culmina en la ovulación y en la formación de un cuerpo lúteo (Hawken y Martin, 2012). Los efectos nutricionales, pueden observarse al suplementar una ración de aminoácidos (Wu, 2010), energía (Schneider *et al.*, 2012), o una dieta integral completa (Kara *et al.*, 2010).

Al-Mauly *et al.* (1991) sugirieron introducir carneros en octubre (época reproductiva) para inducir la ovulación y la pubertad. Yildiz *et al.* (2002) reportaron que el 'efecto macho', no permitió la secreción pulsátil de la LH de ovejas en anestro, dos meses antes de la época reproductiva, y consideraron que las reservas energéticas corporales, parecen ser el principal efector de la liberación pulsátil de la LH durante este periodo. Sin embargo, durante el anestro estacional, introducir al macho después de la sincronización con dispositivos intravaginales de liberación prolongada de progesterona (CIDR®), incrementa la frecuencia de pulsos de la LH, el desarrollo folicular y la ovulación en ovejas prepúberes nacidas en otoño (Knights *et al.*, 2002), ya sea con CIDR® nuevos (Abecia *et al.*, 2011), o con dispositivos reutilizados, que tienen un efecto similar cuando se usan en combinación con el 'efecto macho' (Ungerfeld, 2009).

Los mecanismos nutricionales que regulan el inicio de la pubertad, implican la integración de sensores y efectores metabólicos, en la función de las neuronas de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) a nivel hipotalámico (Amstalden *et al.*, 2011). Esta comunicación neuronal puede favorecerse por neurotransmisores, que se incrementan con el suministro de aminoácidos neuroestimuladores (Brann y Mahesh, 1995). Recabarren *et al.* (1996) encontraron que la infusión intravenosa de 350 mM de L-arginina estimula la secreción de la LH en ovejas prepúberes, e

indicaron que este aminoácido, puede ser un constituyente para activar el eje hipotálamo-hipófisis durante el desarrollo puberal de la oveja. El glutamato, induce el pico preovulatorio de la LH, acelera el inicio de la pubertad y el comportamiento reproductivo ([Mahesh y Brann, 2005](#)). La glutamina, la prolina, y la glicina participan en la regulación de la salud, la supervivencia, el crecimiento, el desarrollo, la lactancia, y la reproducción ([Wu, 2010](#)); y en la expresión génica, la fertilidad, la neurotransmisión e inmunidad en los animales ([Wu, 2014](#)). Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar el ‘efecto macho’ y la acción de un reconstituyente energético comercial para inducir la ovulación, determinar la tasa ovulatoria y caracterizar el pico preovulatorio de la LH; además, comparar la eficiencia reproductiva en respuesta a la sincronización con CIDR®, en ovejas Pelibuey prepúberes.

#### 4.1.4. Materiales y métodos

##### 4.1.4.1. Localización del área de estudio

Se realizaron dos experimentos, el primero (EXP1) durante octubre a diciembre de 2011, y el segundo (EXP2) durante junio de 2012 a enero de 2013, en el Laboratorio de Reproducción de Ovinos y Caprinos (LaROCa) del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, estado de México, localizado a 19°29' N y 98°53' O, a una altitud de 2250 m. El clima es Cb (wo) (w) (i') g, templado subhúmedo con lluvias en verano, precipitación y temperatura promedio anual de 636.5 mm y 15.2°C ([García, 2004](#)).

##### 4.1.4.2. Animales experimentales y manejo

Se utilizaron 81 ovejas Pelibuey prepúberes, 46 de ellas para el EXP1, con edad de 215±8.3 d y peso de 24.4±3.5 kg; y 35 ovejas para el EXP2, con edad de 243±4.3 d y peso de 33.6±4.4 kg. En ambos estudios, se utilizó un reconstituyente energético comercial (REC, Metabolase®; Schütze-Segen, Italia; [Anexo 1](#)).

Durante el desarrollo experimental, todas las ovejas consumieron 2.0 kg oveja<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> de una dieta integral elaborada con heno molido de avena (70%) mezclado con un

concentrado comercial ([Anexo 2](#)) que contenía 15% de proteína cruda, 2.9 Mcal de energía metabolizable  $\text{kg}^{-1}$  (30%), sales minerales y agua a libre acceso. Previo a la asignación a los tratamientos, todas las ovejas se desparasitaron, despezuñaron y se les suministró vitaminas; se mantuvieron en corrales provistos de sombra, comedero, bebedero automático y piso de tierra. El peso se registró cada semana para observar cambios durante la fase experimental.

#### 4.1.4.3. Protocolo experimental y tratamientos

Las ovejas del EXP1, se asignaron conforme a un diseño completo con tratamientos aleatorizados con un arreglo factorial  $2 \times 2$  (Cuadro 1).

Cuadro 1. Experimento factorial en ovejas Pelibuey prepúberes tratadas con reconstituyente energético y ‘efecto macho’ a dos niveles cada uno.

Factor	Nivel	B: ‘Efecto macho’ (EM)	
		b <sub>1</sub> : sin= s	b <sub>2</sub> : con= c
A: Reconstituyente energético (REC)	a <sub>1</sub> : sin= s	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub>	a <sub>1</sub> b <sub>2</sub>
		T1: sRECsEM	T3: sRECcEM
	a <sub>2</sub> : con= c	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub>	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub>
		T2: cRECsEM	T4: cRECcEM

La combinación entre los niveles de ambos factores, generó cuatro tratamientos experimentales: T1, n=12: ovejas testigo, sin el suministro dosificado del reconstituyente energético y sin el estímulo continuo del efecto macho (sRECsEM); T2, n=12: ovejas suministradas con 100 mL del reconstituyente energético vía subcutánea cada tercer día, durante 15 d (cRECsEM); T3, n=10: ovejas estimuladas con ‘efecto macho’ durante 56 h (sRECcEM); y T4, n=12: ovejas suministradas con 100 mL del reconstituyente energético vía subcutánea cada tercer día durante 15 d y estimuladas con ‘efecto macho’ durante 56 h (cRECcEM; Figura 7).

Durante siete semanas previas a la introducción del carnero, todas las ovejas se mantuvieron a una distancia mínima de 100 m del corral de los machos ([Walkden-](#)

Brown *et al.*, 1993), para evitar el contacto visual, auditivo y olfativo entre ellos; y de esta manera, aumentar el estímulo al momento del ‘efecto macho’. Después de este periodo, las ovejas estimuladas con ‘efecto macho’ (sRECcEM y cRECcEM) se condujeron a un corral acondicionado con una estructura metálica interna, que les permitió tener contacto visual, olfativo y auditivo, pero no tuvieron contacto físico con el carnero; lo cual facilitó el manejo durante la colecta de sangre. Durante el ‘efecto macho’, el carnero se sustituyó por uno diferente cada 4 h hasta las 56 h.

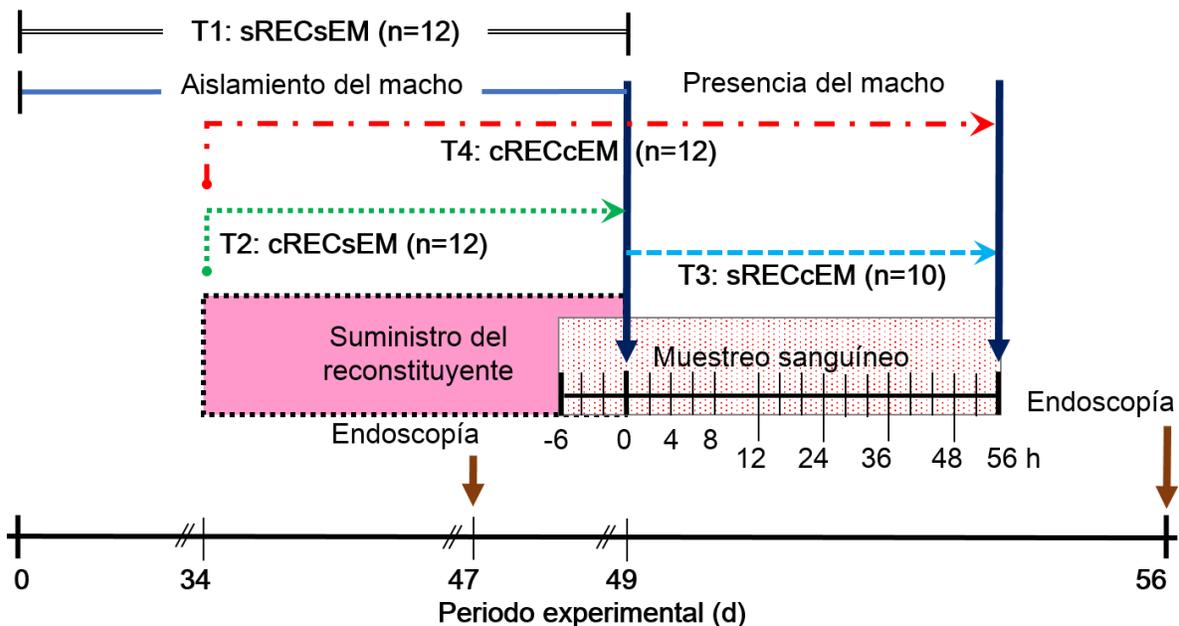


Figura 7. Protocolo de inducción a la ovulación en ovejas Pelibuey prepúberes en respuesta a la acción del reconstituyente energético (cRECcEM); al estímulo con ‘efecto macho’ (sRECcEM); a la interacción de factores (cRECcEM) o al tratamiento testigo (sRECcEM).

#### 4.1.4.4. Evaluación de la actividad ovárica y la tasa ovulatoria

Las ovejas del EXP1, se exploraron por laparoscopia (Mellisho *et al.*, 2006) para observar algún cuerpo lúteo (CL), la primera ocasión fue para diagnóstico y se realizó dos días antes de introducir al carnero, y la segunda, para la evaluación de respuesta a los tratamientos, la cual se hizo a los nueve días posteriores (Figura 7), para observar la cantidad de estructuras presentes en cada ovario. Los folículos ováricos se clasificaron de acuerdo con su diámetro (2 a 3 mm, 4 a 5 mm y mayores de 6 mm; Bartlewski *et al.*, 2011). La tasa ovulatoria (TO) se consideró como el número total de

CL presentes en respuesta a los tratamientos. El porcentaje de ovejas que ovularon se determinó mediante la técnica de endoscopia y se confirmó con la presentación del pico preovulatorio de la LH.

#### 4.1.4.5. Determinación del pico preovulatorio de la LH

En el EXP1, a las ovejas con 'efecto macho' (sRECcEM y cRECcEM), se les colectó 5 mL de sangre vía punción de la vena yugular cada 2 h, desde 6 h antes de introducir el carnero, hasta las 56 h de su presencia (Figura 7), para observar el pico preovulatorio de la LH inducido por el 'efecto macho' y determinar el inicio, el cual se consideró como el tiempo (h) transcurrido desde que se introdujo el carnero hasta el momento en que la concentración promedio basal de la LH por oveja, excedió dos desviaciones estándar y se mantuvo así durante 4 h (Van Cleeff *et al.*, 1998). La duración del pico de la LH, definida como el tiempo (h) desde que inició el pico, se mantuvo así durante 4 h y terminó cuando volvió a ser basal (Van Cleeff *et al.*, 1998). La amplitud del pico, se calculó como la diferencia entre la máxima concentración de la LH en  $\text{ng mL}^{-1}$ , menos la concentración basal (CB) por oveja. La CB se consideró como el promedio entre dos muestras, antes y después del pico preovulatorio de la LH (Mattioli *et al.*, 1986). Las muestras de sangre se colectaron en tubos de vidrio de 5 mL y después se centrifugaron a 600 g durante 15 min. En seguida, se separó el plasma por decantación y se vertió en tubos de plástico de 5 mL, los cuales se colocaron en gradillas de unicel y se almacenaron a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta que se cuantificó la concentración de la LH por radioinmunoanálisis, según la técnica de doble anticuerpo (Perera-Marín *et al.*, 2005), la cual detectó como mínimo  $0.03 \text{ ng mL}^{-1}$  de la LH y coeficientes de variación para el intra (5%) e inter (8%) ensayo.

En el EXP2, las ovejas se asignaron al azar a uno de dos tratamientos: T1, n=18: ovejas estimuladas con 'efecto macho' y suministradas con 100 mL del reconstituyente energético comercial (REC, Metabolase®) vía subcutánea cada tercer día durante 15 d, previo a la inserción del dispositivo intravaginal (EM+REC+CIDR); y T2, n=17: ovejas sin 'efecto macho' suministradas con 100 mL

del reconstituyente energético comercial (REC) vía subcutánea cada tercer día durante 15 d, previo a la inserción del dispositivo intravaginal (REC+CIDR; Figura 8).

#### 4.1.4.6. Sincronización del estro

Antes de introducir al carnero, las ovejas se mantuvieron a una distancia de 100 m del corral de los machos. El ‘efecto macho’ se presentó al introducir un carnero Pelibuey adulto provisto de un mandil, en periodos de 30 min, dos veces al día (8:00 h y 15:00 h) durante 15 d, previo a la inserción del progestágeno (Figura 8).

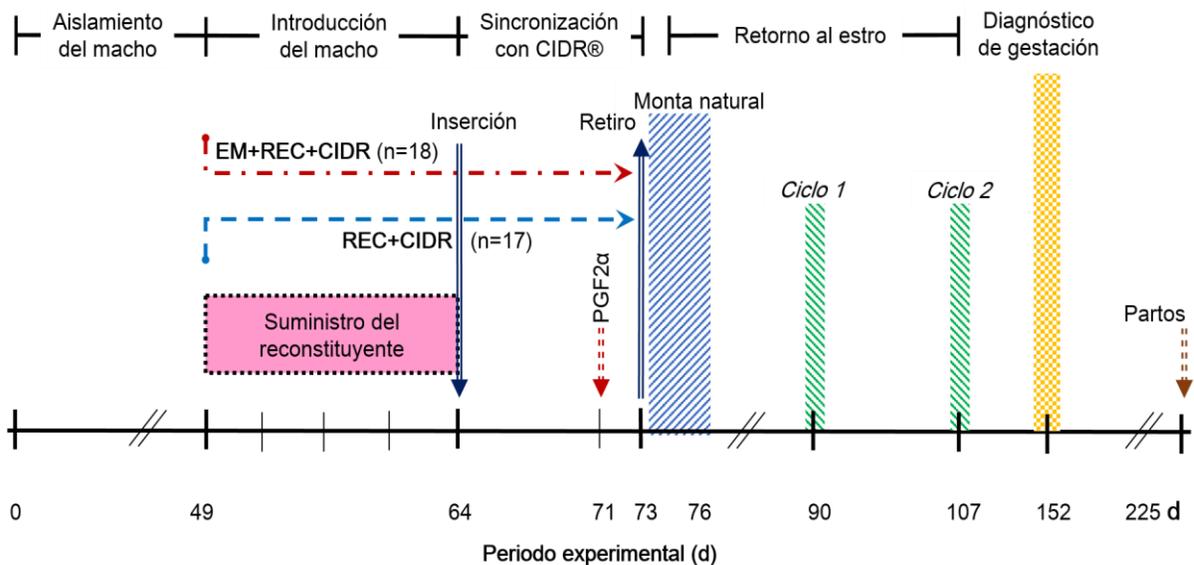


Figura 8. Protocolo de sincronización del estro en ovejas Pelibuey prepúberes suministradas con reconstituyente energético (REC+CIDR) y en combinación con el ‘efecto macho’ (EM+REC+CIDR), previo a la inserción del dispositivo intravaginal.

Se utilizaron cinco carneros experimentados y se introdujeron alternadamente durante este periodo. Para la sincronización del estro, se insertó vía vaginal un dispositivo liberador de progesterona (CIDR®, P4: 0.3 g; Pfizer) que permaneció durante 9 d, y 48 h antes del retiro, se aplicó 1 mL de prostaglandina sintética (250 mcg de cloprostenol sódico, Celosil®, MSD Animal Health; México), con la finalidad de lisar algún CL presente. Después del retiro del CIDR®, se detectó el estro mediante la introducción de un carnero provisto de un mandil cada 4 h durante 72 h.

Las ovejas en estro, se alojaron en un corral distinto, se inseminaron por monta natural a estro detectado y se les proporcionó una segunda monta 12 h después. El retorno al estro se evaluó en un periodo de 34 d, aproximadamente la duración de dos ciclos estrales normales. El diagnóstico de gestación se realizó con un equipo SONOACE Pico (transductor 7.5 Mhz) a los 45 días después de finalizar el segundo ciclo de retorno al estro (Figura 8). Después de cada parto, se registró el peso, número y el sexo de los corderos nacidos por oveja, los cuales se identificaron con rondanas metálicas, de acuerdo con el arete de la madre, y se les asignó una identificación con número progresivo.

#### 4.1.4.7. Variables de estudio

- Evaluación de folículos ováricos. Conteo y clasificación de los folículos según su diámetro, presentes en ambos ovarios por oveja.
- Tasa ovulatoria (TO). Cantidad de cuerpos lúteos presentes en ambos ovarios por oveja.
- Presentación del pico preovulatorio de la LH (%). Respuesta individual de las ovejas que presentaron el pico preovulatorio de la LH.
- Inicio del pico preovulatorio de la LH (h). Tiempo transcurrido desde la introducción del carnero, hasta que hubo diferencia ( $p < 0.05$ ) en la concentración de dos muestras consecutivas, y terminó cuando la concentración fue basal (CB).
- Duración del pico preovulatorio de la LH (h). Duración individual del pico de la LH, que se mantuvo así durante 4 h y terminó cuando volvió a ser basal.
- Amplitud del pico preovulatorio de la LH ( $\text{ng mL}^{-1}$ ). Diferencia entre la máxima concentración de la LH menos la CB, por oveja. La CB se consideró como el promedio entre dos muestras, antes y después del pico preovulatorio de la LH.
- Ovejas en estro (n). Cantidad de hembras que presentaron estro en respuesta a la sincronización con CIDR®, expresado en porcentaje.
- Inicio del estro (h). Tiempo transcurrido desde el retiro del CIDR® hasta que la cordera manifestó estro.

- Retorno al estro (n). Número de ovejas que presentaron estro después de la monta natural, expresado en porcentaje.
- Gestación (%). Número de ovejas gestantes respecto al total de ovejas inseminadas por monta natural, que no retornaron al estro, multiplicado por 100.
- Parición (%). Número de ovejas paridas respecto al total de ovejas gestantes, multiplicado por 100.
- Prolificidad (n). Número de crías nacidas con respecto al total de ovejas paridas en cada tratamiento.
- Fecundidad (n). Número de crías nacidas con respecto al total de ovejas utilizadas en cada tratamiento.
- Cambio de peso (kg). Peso corporal de las ovejas registrado cada semana durante el desarrollo del experimento.

#### 4.1.4.8. Análisis estadístico

Se utilizó el software Statistical Analysis Systems® ([SAS Institute Inc, 2012](#)) para el análisis de los datos. En el EXP1, se utilizó un arreglo de dos factores, A: reconstituyente energético, REC; y B: 'efecto macho', EM, cada uno a dos niveles ( $a_1$  y  $b_1$ : sin, "s";  $a_2$  y  $b_2$ : con, "c"), lo cual generó los tratamientos experimentales aleatorizados en un diseño completo (DCA), cuyo modelo es el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + E_{ij}$$

i: con reconstituyente y sin reconstituyente

j: con 'efecto macho' y sin 'efecto macho'

Donde:

$Y_{ijk}$ = Variable respuesta en la repetición k, nivel j de B, nivel i de A.

$\mu$ = Media general

$A_i$ = Efecto del factor A, reconstituyente energético a nivel i

$B_j$ = Efecto del factor B, 'efecto macho' al nivel j

(AB)<sub>ij</sub>= Efecto de la interacción A\*B, reconstituyente energético\*'efecto macho' al nivel i,j

E<sub>ij</sub>= Error aleatorio, E<sub>ij</sub> ~N (0, σ<sup>2</sup>).

La evaluación de las estructuras ováricas entre tratamientos, se realizó con el procedimiento NPAR1WAY mediante la prueba de Kruskal-Wallis ([Anexo 3, 4, 5](#)). La TO se analizó con el procedimiento TTEST mediante la Prueba de t pareada ([Anexo 4](#)). La duración y la amplitud del pico preovulatorio de la LH, se determinó con un análisis de mediciones repetidas para un DCA, mediante el procedimiento MIXED ([Littell et al., 1998](#)), donde el tiempo de muestreo fue la variable fija y la concentración de la LH, la variable aleatoria. La cantidad de ovejas que presentaron el pico preovulatorio de la LH, respuesta al estro, retorno al estro, tasas de gestación y parición, se analizaron por medio de una regresión logística con PROC LOGISTIC con la prueba de Wald, cuyo modelo es el siguiente:

$$P(Y/X) = \frac{e^{\beta_0 + \beta_1 X}}{1 + e^{\beta_0 + \beta_1 X}}$$

Donde:

P(Y/X): Probabilidad de presentar el pico preovulatorio de la LH, presentar estro, retorno a estro, gestación, y parición dado el tratamiento X.

e: 2.71

β<sub>0</sub> y β<sub>1</sub>: Coeficientes del modelo

Y: Respuesta (si o no)

X: Tratamiento

Para analizar la variable inicio del estro, se realizó previo la prueba de [Shapiro y Wilk \(1965\)](#) para observar normalidad univariada y justificar el análisis con el método de curvas de supervivencia de Kaplan Meier y la Regresión de Cox ([Salinas, 2008](#)), usando la prueba de Log-Rank, con el procedimiento LIFETEST, en el siguiente modelo:

$$H(t) = H(t)_0 * e^{(X_1 * \beta_1 + X_2 * \beta_2 + X_k * \beta_k)}$$

Donde:

$H(t)$ : función de riesgo (hazard ratio) de que una oveja inicie el estro al tiempo  $t$ .

$H(t)_0$ : función de riesgo mínima al tiempo  $t$ .

$X_k$ : variable predictora  $k$

$\beta_k$ : constante asociada a la variable  $k$ .

El cambio de peso de las ovejas Pelibuey prepúberes del EXP1, se comparó con un análisis de varianza mediante el procedimiento PROC MIXED (Littell *et al.*, 1998). Se empleó LSMEANS para calcular las medias de los mínimos cuadrados de los efectos fijos, y ADJUST para ajustar las pruebas de comparación múltiple de medias en pares (Tukey,  $\alpha=0.05$ ), con un modelo mixto en un arreglo factorial  $2^*2$ , modificado para observar los efectos principales e interacciones en el periodo de evaluación (semana), de la siguiente manera:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + B_j + A*B_{ij} + d_{ij} + P_k + (AP)_{ik} + (BP)_{jk} + (A*B*P)_{ijk} + E_{ijkl}$$

Donde:

$Y_{ijkl}$ = Variable respuesta,  $i= 1,2$ ;  $j= 1,2$ ;  $k= 1,2\dots 11$ ;  $l= 1,2$ .

$\mu$ = Media general

$A_i$ = Efecto del factor A, reconstituyente energético a nivel  $i$

$B_j$ = Efecto del factor B, 'efecto macho' al nivel  $j$

$P_k$ = Efecto del periodo P al nivel  $k$

$d_{ij}$ = Error aleatorio dentro de efectos principales (tratamientos)

$(AB)_{ij}$ ,  $(AP)_{ik}$ ,  $(BP)_{jk}$ ,  $(ABP)_{ijk}$ ,  $(AB)_{ij}$ = Efecto de las interacciones

$E_{ijkl}$ = Error aleatorio

El análisis de la varianza para el cambio de peso de las ovejas del EXP2, se realizó con el procedimiento PROC GLM, para el análisis de medidas repetidas en el tiempo. Se utilizó la prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ), para la comparación de medias por efecto de tratamientos y para la interacción *tratamiento\*periodo*, con el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + d_{j(i)} + P_k + (TP)_{ik} + E_{ijk}$$

$i= 1 \dots t, j= 1 \dots r, k= 1 \dots n$

Donde:

$Y_{ijk}$ = Variable respuesta en la  $k$ -ésima observación

$\mu$ = Media general

$T_i$ = Efecto del  $i$ -ésimo tratamiento

$d_{ji}$ = Error aleatorio asociado dentro con la  $j$ -ésima ovejas (sujeto) dentro del  $i$ -ésimo tratamiento

$P_k$ = Efecto del  $k$ -ésimo periodo

$(TP)_{ik}$ = Efecto de la interacción *tratamiento\*periodo*

$E_{ijk}$ = Error aleatorio asociado con la  $k$ -ésima medida repetida dentro de la  $j$ -ésima oveja

#### 4.1.5. Resultados

##### 4.1.5.1. Inducción de la ovulación

##### 4.1.5.1.1. Evaluación de la actividad ovárica

La acción del reconstituyente energético y el ‘efecto macho’, así como su interacción, no aumentaron ( $p>0.05$ ) la cantidad folículos ováricos de 2 a 3 mm, de 4 a 5 mm, ni los mayores de 6 mm de diámetro (Cuadros 2, 3 y 4; [Anexos 3, 4 y 5](#)); solo se observó mayor cantidad ( $p<0.05$ ) de folículos de 4 a 5 mm de diámetro en las ovejas testigo (Cuadro 3; [Anexo 4](#)).

Cuadro 2. Cantidad de folículos de 2 a 3 mm en ovejas Pelibuey prepúberes en respuesta a dos niveles de suministro del reconstituyente energético y de ‘efecto macho’.

Tratamiento	Endoscopia		Pr> $\chi^2$	Significancia
	Diagnóstico	Evaluación		
T1: Ovejas testigo	0.6	0.0	0.0145	*
T2: Ovejas con reconstituyente energético y sin ‘efecto macho’	1.2	0.2	0.0027	**
T3: Ovejas sin reconstituyente energético y con ‘efecto macho’	1.6	0.8	0.0142	*
T4: Ovejas con reconstituyente energético y con ‘efecto macho’	1.8	0.7	0.0015	*

\*Significativo, \*\*Altamente significativo.

Cuadro 3. Cantidad de folículos de 4 a 5 mm en ovejas Pelibuey prepúberes en respuesta a dos niveles de suministro del reconstituyente energético y de 'efecto macho'.

Tratamiento	Endoscopías		Pr> $\chi^2$	Significancia
	Diagnóstico	Evaluación		
T1: Ovejas testigo	0.3	1.5	0.0021	**
T2: Ovejas con reconstituyente energético y sin 'efecto macho'	0.3	0.2	0.5804	NS
T3: Ovejas sin reconstituyente energético y con 'efecto macho'	0.0	0.0	1.0	NS
T4: Ovejas con reconstituyente energético y con 'efecto macho'	0.0	0.0	1.0	NS

\*\*Altamente significativo, NS: No significativo.

Cuadro 4. Cantidad de folículos mayores de 6 mm en ovejas Pelibuey prepúberes en respuesta a dos niveles de suministro del reconstituyente energético y de 'efecto macho'.

Tratamiento	Endoscopías		Pr> $\chi^2$	Significancia
	Diagnóstico	Evaluación		
T1: Ovejas testigo	0.7	0.0	0.0061	**
T2: Ovejas con reconstituyente energético y sin 'efecto macho'	0.3	0.0	0.1486	NS
T3: Ovejas sin reconstituyente energético y con 'efecto macho'	0.4	0.6	0.5107	NS
T4: Ovejas con reconstituyente energético y con 'efecto macho'	0.2	0.4	0.3415	NS

\*\*Altamente significativo, NS: No significativo.

#### 4.1.5.1.2. Tasa ovulatoria

En la primer endoscopia, la exploración para diagnóstico evidenció que ninguna oveja presentó CL ( $p>0.05$ ), y en la segunda, la cantidad de CL no se afectó ( $p>0.05$ ) por la acción del reconstituyente energético, pero aumentó ( $p<0.05$ ) en las ovejas Pelibuey prepúberes estimuladas con 'efecto macho' y con la interacción con el reconstituyente energético. Dichas ovejas, solo presentaron un CL cada una, por lo cual, la tasa ovulatoria fue similar ( $p>0.05$ ), pero superior ( $p<0.05$ ; [Anexo 6](#)) al de las ovejas testigo y aquellas suministradas con el reconstituyente energético (Cuadro 5).

Cuadro 5. Cantidad de cuerpos lúteos en ovejas Pelibuey prepúberes en respuesta a dos niveles de suministro del reconstituyente energético y de 'efecto macho'.

Tratamientos	n	Ovejas que ovularon (n)	Cuerpos lúteos (n)	Tasa ovulatoria
T1: Ovejas testigo	12	0	0	0.00 <sup>a</sup>
T2: Ovejas con reconstituyente energético y sin 'efecto macho'	12	2	2	0.17 <sup>a</sup>
T3: Ovejas sin reconstituyente energético y con 'efecto macho'	10	7	7	0.70 <sup>b</sup>
T4: Ovejas con reconstituyente energético y con 'efecto macho'	12	9	9	0.75 <sup>b</sup>

<sup>a, b</sup>: Valores con distinta literal en una columna son diferentes ( $p < 0.05$ ).

#### 4.1.5.1.3. Incidencia, inicio, duración y amplitud del pico preovulatorio de la LH

El 'efecto macho' y su interacción con el reconstituyente energético no afectaron ( $p > 0.05$ ) las características (Cuadro 6), el porcentaje de respuesta (Anexo 9 y 10) y la concentración (Figura 9) del pico preovulatorio de la LH en las ovejas Pelibuey prepúberes.

Cuadro 6. Características del pico preovulatorio de la LH en ovejas Pelibuey prepúberes en respuesta al 'efecto macho' y a dos niveles de suministro del reconstituyente energético.

Tratamiento	n	Pico (%)	Inicio <sup>†</sup> (h)	Ocurrencia <sup>†</sup> (h)	Duración <sup>†</sup> (h)	Amplitud <sup>†</sup> (ng mL <sup>-1</sup> )
T3: Ovejas sin reconstituyente energético y con 'efecto macho'	10	70.0 <sup>a</sup>	12.0 ± 4.4 <sup>a</sup>	21.1 ± 3.3 <sup>a</sup>	11.5 ± 1.0 <sup>a</sup>	17.6 ± 0.8 <sup>a</sup>
T4: Ovejas con reconstituyente energético y con 'efecto macho'	12	91.7 <sup>a</sup>	15.8 ± 2.8 <sup>a</sup>	23.2 ± 2.6 <sup>a</sup>	11.2 ± 1.8 <sup>a</sup>	17.5 ± 0.8 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>: Valores con literal similar en misma columna son iguales ( $p > 0.05$ ).

<sup>†</sup>: Media ± error estándar.

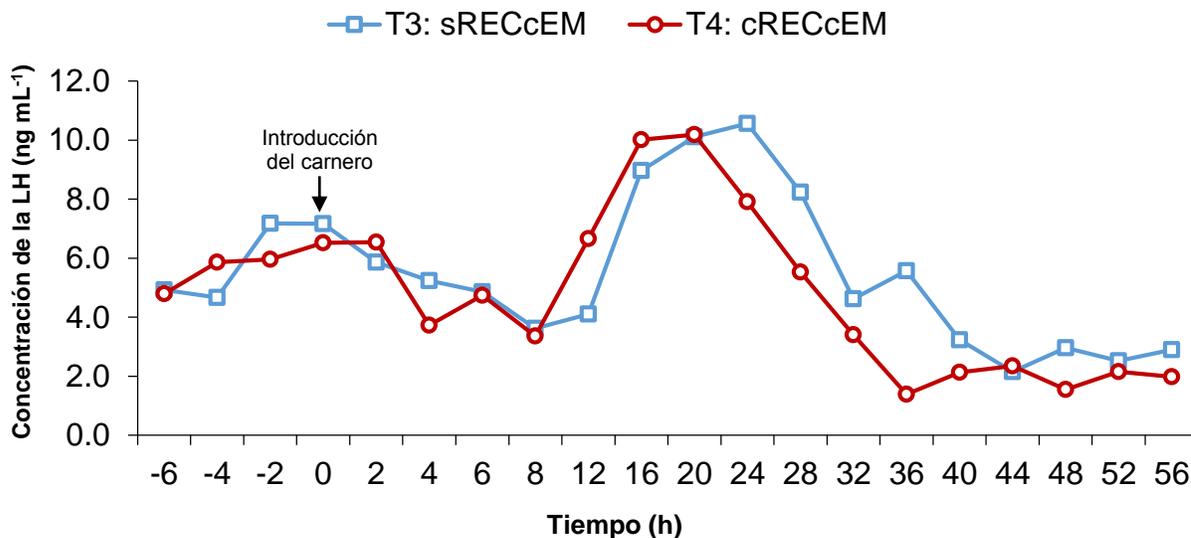


Figura 9. Cantidades plasmáticas de la LH en ovejas Pelibuey prepúberes en respuesta al ‘efecto macho’ (sRECcEM) y a la interacción con el reconstituyente energético (cRECcEM).

#### 4.1.5.1.4. Cambio de peso

Durante el periodo experimental, el ‘efecto macho’ no afectó ( $p>0.05$ ) el peso de las ovejas; sin embargo, la acción del reconstituyente energético y su interacción con el ‘efecto macho’, influyeron ( $p<0.05$ ; Anexo 7) en el cambio de peso.

Las ovejas tratadas con el reconstituyente energético y con ‘efecto macho’ presentaron mayor peso ( $p<0.05$ ; cRECcEM:  $25.0\pm 0.68$  kg) con respecto a las del grupo testigo (sRECcEM:  $22.2\pm 0.68$  kg).

El peso a la primera ovulación en las ovejas con ‘efecto macho’ y con la interacción con el reconstituyente energético, se registró a los 63 d del periodo experimental y fue similar entre tratamientos ( $p>0.05$ , sRECcEM: 29.3 kg y cRECcEM: 29.8 kg, respectivamente; Figura 10).

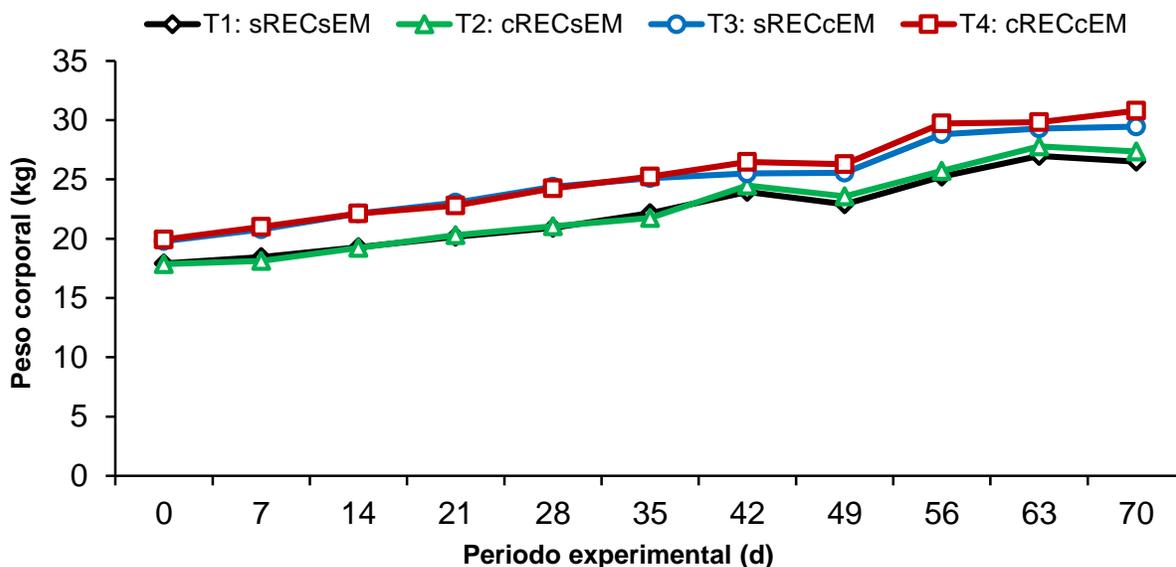


Figura 10. Peso corporal en ovejas Pelibuey prepúberes en respuesta al reconstituyente energético (cRECsEM), al ‘efecto macho’ (sRECcEM), a la interacción de factores (cRECcEM) y al tratamiento testigo (sRECsEM).

#### 4.1.5.2. Sincronización del estro con CIDR®

##### 4.1.5.2.1. Respuesta al estro

El ‘efecto macho’ no influyó ( $p>0.05$ ) en la respuesta a la sincronización con progestágenos en las ovejas Pelibuey prepúberes suministradas con el reconstituyente energético (EM+REC+CIDR: 83.3% y REC+CIDR: 52.9%), tampoco afectó la proporción del retorno al estro, la tasa de gestación y la tasa de parición entre tratamientos ( $p>0.05$ ; Anexo 11), pero redujo ( $p>0.05$ ) el inicio del estro (EM+REC+CIDR:  $32.3\pm 3.8$  h y REC+CIDR:  $62.1\pm 3.6$  h). Los datos para esta variable no presentaron normalidad univariada ( $p<0.05$ ; Anexo 8).

##### 4.1.5.2.2. Prolificidad y fecundidad

El ‘efecto macho’ aumentó ( $p<0.05$ ) la prolificidad de las ovejas Pelibuey prepúberes suministradas con el reconstituyente energético en la sincronización con progestágeno (EM+REC+CIDR:  $1.6\pm 0.2$  crías y REC+CIDR:  $1.0\pm 0.0$  crías), pero no influyó ( $p>0.05$ ; Anexo 12) en la fecundidad (EM+REC+CIDR:  $0.7\pm 0.2$  crías y REC+CIDR:  $0.3\pm 0.1$  crías).

#### 4.1.5.2.3. Cambio de peso

No se observaron diferencias ( $p>0.05$ ) en el peso de las ovejas Pelibuey prepúberes, para cada periodo de evaluación entre tratamientos. La interacción *tratamiento\*periodo* influyó ( $p<0.05$ ) en el cambio de peso a los 7, 42 y 77 días de la fase experimental en las ovejas estimuladas con 'efecto macho' y suministradas con el reconstituyente energético, previo a la inserción del progestágeno (EM+REC+CIDR). En aquellas suministradas con el reconstituyente energético (REC+CIDR), se observó a los 7, 14, 42 y 77 días de la fase experimental. El peso al primer estro se registró a los 70 d de la fase experimental y fue similar ( $p>0.05$ ) entre tratamientos (EM+REC+CIDR: 36.6 kg y REC+CIDR: 36.7 kg, respectivamente; [Anexo 13](#)).

#### 4.1.6. Discusión

Evaluación de folículos ováricos y tasa ovulatoria

[Zavala-Elizarrarás et al. \(2008\)](#) mencionaron que la raza de las ovejas influye en el número de folículos, pero no en el diámetro folicular ni en la tasa ovulatoria (TO), donde la oveja Pelibuey tiene 9.3 folículos de 1.5 mm de diámetro y una TO de 1.4 en promedio. Estos valores difieren con los obtenidos en las ovejas Pelibuey prepúberes en el presente estudio, pero coinciden con lo reportado por [Pellicer-Rubio et al. \(2013\)](#). Por tanto, se puede considerar la diferenciación folicular durante el reclutamiento, donde los folículos sensibles a las gonadotropinas son mayores de 2 mm de diámetro y en la selección, los folículos ovulatorios de 4 mm son los que serán dominantes, mientras que los demás sufrirán atresia ([Bartlewski et al., 2011](#)). Sin embargo, aún no se confirma si la expresión de los marcadores presentes en la vascularización o angiogénesis de la proliferación celular y apoptosis de los folículos ováricos, en la última y penúltima oleada folicular, inducen los picos de la FSH que iniciaron la oleada folicular ([Seekallu et al., 2010](#)).

[Alcaraz-Romero et al. \(2012\)](#) reportaron 61.5% de ovejas prepúberes Pelibuey que ovularon con 'efecto macho' y presentaron una TO de  $1.4\pm 0.2$ . Lo anterior difiere con la TO de 0.7 y con el 70% de ovejas Pelibuey prepúberes que ovularon por el 'efecto

macho', en el presente estudio. Cuando la inducción a la ovulación ocurre después de la introducción del carnero, el inicio de la función luteal también se estimula ([Bartlewski et al., 2002](#)). Por tanto, quizás la respuesta a la ovulación en las ovejas Pelibuey prepúberes estimuladas con 'efecto macho' en el presente estudio, ovularon porque la presencia continua del carnero, estimuló la producción de la GnRH y la secreción de la LH ([Abecia et al., 2012](#)).

[Kara et al. \(2010\)](#) observaron que un suplemento con un alto contenido de vitaminas, minerales, aminoácidos neuroestimuladores y sorbitol, mejoró la eficiencia reproductiva en ovejas. [Hamra et al. \(2003\)](#) demostraron que la pubertad se presentó tres semanas antes en ovejas prepúberes suplementadas con L-arginina. En el presente estudio, el reconstituyente energético no favoreció el aumento en la cantidad de folículos ováricos según su diámetro, pero se observó que en interacción con el 'efecto macho', se mejoró la TO y el porcentaje de ovulación. Quizás el 'efecto macho' se potencializó por la acción neuromoduladora del glutamato, el aspartato y la arginina contenidos en el reconstituyente energético, y ésta interacción se reflejó en favor de la tasa ovulatoria, en la inducción del pico preovulatorio de la LH y la ovulación ([Estienne et al., 2000](#); [Mahesh y Brann, 2005](#); [Wu, 2010](#)).

Incidencia, inicio, duración y amplitud del pico preovulatorio de la LH

[Scaramuzzi et al. \(2013\)](#) reportaron porcentaje similar de ovejas que presentaron el pico preovulatorio de la LH en grupos con diferente condición corporal (alta y baja) y alimentadas con distintas raciones durante 5 d (con y sin 500 g de lupino). Lo anterior coincide con la similitud de respuesta al pico preovulatorio de la LH, en el presente estudio. No obstante, [Knights et al. \(2002\)](#) reportaron 100% de ovejas que presentaron el pico preovulatorio de la LH, en respuesta al 'efecto macho'. Estas diferencias se atribuyen a que las ovejas en anestro ovulan en respuesta a la introducción del carnero, aunque el 'efecto macho' sea incapaz de estimular la secreción de la LH, cuando la retroacción del estrógeno es demasiado fuerte ([Martin y Cownie, 1984](#)).

Camacho-Ronquillo *et al.* (2008) reportaron resultados similares en las características del pico preovulatorio de la LH en ovejas sincronizadas con FGA e inducidas a la pubertad con eCG. Lo anterior coincide con la similitud para el inicio, la duración y la amplitud del pico de la LH ( $12.0 \pm 4.4$  h,  $11.5 \pm 1.0$  h y  $17.6 \pm 0.8$  ng mL<sup>-1</sup>; respectivamente) en las ovejas Pelibuey prepúberes con 'efecto macho' y con la interacción del reconstituyente energético, en el presente estudio. La caracterización del pico preovulatorio de la LH en las ovejas Pelibuey prepúberes estimuladas con 'efecto macho' en el presente estudio, difiere en el inicio, la duración y la amplitud del pico de la LH ( $32.6 \pm 4.6$  h,  $13.7 \pm 0.8$  h, y  $4.8 \pm 0.3$  ng mL<sup>-1</sup>, respectivamente) en ovejas estimuladas con 'efecto macho' (Knights *et al.*, 2002). Esta diferencia quizás se deba a que la determinación del pico preovulatorio de la LH se caracterizó en diferente época del año, porque durante la época reproductiva, se espera una respuesta favorable al 'efecto macho' (Chanvallon *et al.*, 2011). Lo cual sugiere que la presencia continua del macho, quizás fue el elemento principal que desencadenó la presentación del pico preovulatorio de la LH, y si el carnero se retirara antes de que la oveja ovulara, probablemente la frecuencia de la secreción pulsátil de la LH se reduciría a niveles basales.

#### Respuesta a la sincronización del estro

El protocolo más utilizado para sincronizar el estro en ovinos se basa en la aplicación de progesterona (P<sub>4</sub>; Abecia *et al.*, 2011) como dispositivos intravaginales (CIDR®) y la eficiencia reproductiva se mejora cuando se usa en combinación con el 'efecto macho' (Ungerfeld, 2009). Valencia *et al.* (2006) reportaron 72.6% de respuesta al estro en ovejas Pelibuey primaras con 'efecto macho'. Este valor es inferior al obtenido en el presente estudio, en las ovejas Pelibuey prepúberes con 'efecto macho' y suministradas con el reconstituyente energético, previo a la inserción del CIDR®; pero no superó el 92.9% de respuesta al estro en ovejas Santa Inés sincronizadas con CIDR® (Pinna *et al.*, 2012). Estas diferencias se atribuyen a la permanencia del CIDR®, debido a que los protocolos de sincronización en ovejas recomiendan su permanencia durante 12 a 14 días para aumentar la respuesta al estro, aunque la fertilidad puede disminuir (Silva *et al.*, 2010). Ungerfeld *et al.* (1999)

reportaron que el 'efecto macho' no influyó en la repuesta a la sincronización con CIDR® en ovejas Corriedale, lo cual coincide con la respuesta del 'efecto macho' en la sincronización del estro, en el presente estudio.

El inicio del estro obtenido en las ovejas Pelibuey prepúberes en el presente estudio, se asemeja a las  $46\pm 9.8$  h en ovejas Santa Inés (Pinna *et al.*, 2012) y a las  $42\pm 6.4$  h en ovejas Corriedale (Vilariño *et al.*, 2013). Es posible que la introducción del carnero, previo a la sincronización con CIDR®, sea una de las diferencias para esta variable, como lo sugirieron Jackson *et al.* (2014), quienes sincronizaron el estro con CIDR® durante 5 d en ovejas estimuladas con 'efecto macho' y redujeron el inicio del estro. Es posible que la acción neuroestimuladora de los aminoácidos contenidos en el reconstituyente energético, no expresaron su efecto en forma individual, contrario al efecto positivo reflejado en el comportamiento reproductivo en ovejas Pelibuey suplementadas con L-arginina (Bulbarela-García *et al.*, 2009).

#### Tasa de gestación

El porcentaje de gestación obtenido en las ovejas Pelibuey prepúberes en el presente estudio, se asemeja al 80.4% (Vilariño *et al.*, 2013) y al 76.9% (Ungerfeld, 2009) obtenido en ovejas adultas. Es posible que la madurez sexual de las ovejas se considere como una característica que puede limitar el potencial productivo, debido a que el rendimiento reproductivo en ovejas prepúberes es inferior al de las ovejas adultas (Kenyon *et al.*, 2014).

#### Prolificidad y fecundidad

En el presente estudio, la prolificidad de las ovejas Pelibuey prepúberes estimuladas con 'efecto macho' y suministradas con el reconstituyente energético, coincide con los 1.2 a 1.7 corderos (Herrera *et al.*, 2010) y con las 1.3 crías (Ramón-Ugalde y Sanginés-García, 2002), pero difiere con las  $1.9\pm 0.3$  crías (Knights *et al.*, 2011). La prolificidad de las ovejas Pelibuey prepúberes suministradas con el reconstituyente energético y sin 'efecto macho' en el presente estudio, es inferior a las  $2.5\pm 0.2$  y  $1.4\pm 0.4$  corderos de ovejas Pelibuey sincronizadas e inducidas a la pubertad sin

'efecto macho' (Camacho-Ronquillo *et al.*, 2008). Ramón-Ugalde y Sanginés-García (2002) reportaron una fecundidad de 0.7 y 1.0 crías, diferente a la obtenida en las ovejas Pelibuey prepúberes en el presente estudio. Estos contrastes de prolificidad y fecundidad, posiblemente se deban a la actividad sexual que ejerció el carnero previo a la sincronización del estro, donde quizás se favoreció el desarrollo folicular, se incrementó la tasa ovulatoria y se reflejó en una mayor prolificidad en las ovejas con 'efecto macho' (Salloum y Claus, 2005). La disminución de la fecundidad puede atribuirse a la presencia de un folículo persistente, a la ovulación de posibles ovocitos envejecidos y a la formación de un CL de corta duración (Valasi *et al.*, 2013).

#### Cambio de peso

Al-Mauly *et al.* (1991) reportaron que las ovejas en presencia del macho durante época reproductiva presentaron 39 kg a la primera ovulación. El peso a la pubertad se registró a los  $31.2 \pm 0.7$  kg en ovejas suplementadas con L-Arginina (Hamra *et al.*, 2003) y a los  $32.5 \pm 1.4$  kg en ovejas con 'efecto macho' (Álvarez y Andrade, 2008). Estos resultados difieren con los 29.3 kg y 29.8 kg de peso a la primera ovulación en las ovejas Pelibuey prepúberes estimuladas con 'efecto macho' y en la interacción con el reconstituyente energético, en el presente estudio; pero se asemejan a los  $27.6 \pm 0.2$  kg que presentaron las corderas Pelibuey al primer CL (Zavala-Elizarrarás *et al.*, 2008). Estos contrastes pueden considerar la relación compleja que existe entre el nivel nutricional y la actividad reproductiva en rumiantes, debido a que las evidencias resultan ser, variables e inconsistentes (Zavala-Elizarrarás *et al.*, 2008).

En el presente estudio, las ovejas Pelibuey prepúberes, recibieron la misma ración alimenticia durante la fase experimental; aunque se sometieron a la exploración de los ovarios vía endoscopía y a la colecta de sangre en forma continua durante 56 h, no presentaron cambios de peso corporal. Es posible que las condiciones de manejo en los animales, se consideren como un factor estresante para los eventos reproductivos, por lo cual, la disminución en peso y la baja condición corporal sean una consecuencia (Dobson *et al.*, 2012). Álvarez y Andrade (2008) reportaron  $32.5 \pm 1.4$  kg de peso al primer estro en ovejas con 'efecto macho' y  $37.0 \pm 1.4$  kg en

aquellas sin este estímulo, lo anterior difiere con el peso al primer estro en las ovejas Pelibuey prepúberes suministradas con el reconstituyente energético en ausencia o presencia del estímulo del 'efecto macho' previo a la sincronización, en el presente estudio.

#### 4.1.7. Conclusiones

En la inducción a la ovulación, la acción del reconstituyente energético, el 'efecto macho', así como su interacción, no favorecen el incremento en la cantidad de los folículos ováricos de diferente diámetro, sin embargo, el 'efecto macho' y la interacción con el reconstituyente energético mejoran la tasa ovulatoria, influyen en la respuesta a la presentación del pico preovulatorio de la LH y al porcentaje de ovulación.

El peso de las ovejas no se afecta por el 'efecto macho', pero el suministro del reconstituyente energético y la interacción con el 'efecto macho' influyen en el cambio de peso durante el periodo de evaluación y no afectan el peso a la primera ovulación.

En la sincronización del estro con progesterona, el 'efecto macho' adelanta el inicio del estro y aumenta la prolificidad; pero no influye en la respuesta al estro, en la tasa de gestación y de parición, y en la fecundidad en las ovejas suministradas con el reconstituyente energético.

El 'efecto macho' no afecta el peso de las ovejas suministradas con el reconstituyente energético, pero influye en el cambio de peso durante el periodo de evaluación y no afectan el peso al primer estro sincronizado.

## 4.2. 'EFECTO MACHO' EN LA SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO CON PROGESTERONA O PROSTAGLANDINAS EN OVEJAS PELIBUEY POSTPARTO

### 4.2.1. Resumen

Con la finalidad de evaluar el 'efecto macho' (EM) y su respuesta en la sincronización del estro con diferentes protocolos, se realizaron dos experimentos en ovejas Pelibuey postparto. En el primero, el estro se sincronizó con dispositivos intravaginales liberadores de progesterona (CIDR®) y siete días antes, se aplicó acetato de fertirelin (análogo de la hormona liberadora de gonadotropinas, GnRH) para inducir un pico preovulatorio de la hormona luteinizante (LH). En el segundo, el estro se sincronizó con dos dosis de prostaglandinas (PGF2 $\alpha$ ) y después de aplicar la segunda, las ovejas se separaron de sus crías por 48 h (destete temporal, DT), para inducir una descarga preovulatoria de la LH. En ambos experimentos, se utilizaron ovejas con amamantamiento continuo (AC). Las ovejas sincronizadas con progestágeno, se asignaron al azar a uno de dos tratamientos: T1, n=29: ovejas estimuladas con 'efecto macho' durante 15 d antes de insertar el progestágeno (AC+EM+CIDR); y T2, n=29: ovejas sincronizadas sin 'efecto macho' (AC+CIDR). Las ovejas sincronizadas con PGF2 $\alpha$ , se asignaron al azar a uno de cuatro tratamientos, derivados de un arreglo de dos factores (EM y DT), cada uno a dos niveles (sin: s y con: c): T1, n=20: ovejas testigo, sin 'efecto macho' y sin destete temporal (sEMsDT); T2, n=20: ovejas sin 'efecto macho' y con destete temporal (sEMcDT); T3, n=19: ovejas con 'efecto macho' y sin destete temporal (cEMsDT); y T4, n=19: ovejas con 'efecto macho' y con destete temporal (cEMcDT). En la sincronización con progestágeno, el 'efecto macho' no afectó ( $p>0.05$ ) la respuesta al estro (100% y 93%), la tasa de parición (95.8% y 86.7%), la prolificidad (2.0 $\pm$ 0.2 crías y 2.1 $\pm$ 0.2 crías); pero favoreció ( $p<0.05$ ) el inicio del estro (37.5 $\pm$ 2.5 h y 46.6 $\pm$ 3.7 h), la tasa de retorno al estro (17.2% y 44.4%), la tasa de gestación (82.8% y 55.6%) y la fecundidad (1.6 $\pm$ 0.2 crías y 0.9 $\pm$ 0.2 crías) en las ovejas con AC+EM+CIDR y AC+CIDR, respectivamente. En la sincronización con PGF2 $\alpha$ , el 'efecto macho' (cEMsDT) y el destete temporal (sEMcDT) no influyeron ( $p>0.05$ ) en el inicio de estro, en las tasas de gestación y de parición, y en la prolificidad; a su vez, esta

respuesta fue similar ( $p>0.05$ ) a la de las ovejas testigo (sEMsDT). El efecto del tratamiento con 'efecto macho' y con destete temporal (cEMcDT) aumentó ( $p<0.05$ ) la respuesta al estro, redujo ( $p<0.05$ ) la tasa del retorno al estro, e incrementó ( $p<0.05$ ) la fecundidad. En la sincronización con progestágeno, el 'efecto macho' no afectó ( $p>0.05$ ) el peso de las ovejas con amamantamiento continuo, pero influyó ( $p<0.05$ ) en el cambio de peso durante el periodo de evaluación. En ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo, el 'efecto macho' favorece el inicio del estro, la tasa de gestación y la fecundidad en respuesta a la sincronización del estro postparto con progesterona. A su vez, en la sincronización postparto con prostaglandinas, al realizar el 'efecto macho' y el destete temporal en forma conjunta, se reduce la tasa de retorno al estro y se incrementa la respuesta al estro y la fecundidad.

Palabras clave: CIDR,  $\text{PGF2}\alpha$ , bioestimulación, amamantamiento continuo, destete temporal.

#### 4.2.2. Abstract

In order to evaluate the 'male effect' (ME) in estrous synchronization with different protocols, two experiments in postpartum Pelibuey ewes were conducted. In first, estrous was synchronized with intravaginal progesterone-releasing devices (CIDR®) and seven days before device insertion, fertirelin acetate (analogue of gonadotropin-releasing hormone, GnRH) was applied to induce a preovulatory luteinizing hormone (LH) peak. In second, estrous was synchronized with two doses of prostaglandins ( $\text{PGF2}\alpha$ ) and after applying the second, ewes were separated from their lambs during 48 h (temporary weaning, TW), to induce a preovulatory LH discharge. In both experiments, ewes with continuous suckling (CS) were studied. In synchronization with progestogen, ewes were randomized to one of two treatments: T1,  $n=29$ : ewes were stimulated with 'male effect' during 15 d before progestogen insertion (CS+ME+CIDR); and T2,  $n=29$ : ewes were synchronized without 'male effect' (CS+CIDR). In synchronization with  $\text{PGF2}\alpha$ , ewes were randomized to one of four treatments derived from an arrangement of two factors (ME and TW), each at two levels (without: wo and with: w): T1,  $n=20$ : control ewes, without 'male effect' and temporary weaning (woMEwoTW); T2,  $n=20$ : ewes without 'male effect' and with

temporary weaning (woMEwTW); T3, n=19: ewes with 'male effect' and without temporary weaning (wMEwoTW); and T4, n=19: ewes with 'male effect' and temporary weaning (wMEwTW). In synchronization with progestogen, the 'male effect' did not affect ( $p>0.05$ ) estrous response (100% and 93%), calving rate (95.8% and 86.7%), prolificacy ( $2.0\pm 0.2$  lambs and  $2.1\pm 0.2$  lambs) among treatments; but it favored ( $p<0.05$ ) the estrous onset ( $37.5\pm 2.5$  h and  $46.6\pm 3.7$  h), the return to oestrus (17.2% and 44.4%), the pregnancy rate (82.8% and 55.6%), and fertility ( $1.6\pm 0.2$  lambs and  $0.9\pm 0.2$  lambs) among CS+ME+CIDR and CS+CIDR, respectively. In synchronization with  $\text{PGF}_2\alpha$ , both the 'male effect' (wMEwoTW) and temporary weaning (woMEwTW) treatments had not effect in the estrous onset, pregnancy and calving rate, and prolificacy ( $p>0.05$ ); in turn, this response was similar than control ewes response (woMEwoTW;  $p>0.05$ ). Both the 'male effect' (wMEwoTW) and temporary weaning (wMEwTW) treatments increased the estrous response ( $p<0.05$ ), reduced the return to oestrus ( $p<0.05$ ), and increased fertility ( $p<0.05$ ). In synchronization with progestogen, the 'male effect' did not affect the ewes's weight with continuous suckling ( $p>0.05$ ), but it influenced in their weight change during the evaluation period ( $p<0.05$ ). In Pelibuey ewes with continuous suckling, the 'male effect' enhances the estrous onset, pregnancy rate and fertility in response to postpartum estrous synchronization with progesterone. In turn, in postpartum estrous synchronization with prostaglandins, to perform the "ram effect" and the weaning together, the return to oestrus is reduced and estrous response and fertility are increased.

Keywords: CIDR,  $\text{PGF}_2\alpha$ , biostimulation, continuous suckling, weaning time.

#### 4.2.3. Introducción

En la actualidad, los protocolos de manejo reproductivo se basan en la aplicación de hormonas exógenas que simulan la acción de un cuerpo lúteo (CL), como los progestágenos ( $\text{P}_4$ ); y otros consiguen eliminarlo, para inducir una fase folicular y la ovulación, como las prostaglandinas ( $\text{PGF}_2\alpha$ ; [Abecia et al., 2012](#)). Los métodos naturales, también son capaces de inducir la ovulación, como la acción de las feromonas masculinas ('efecto macho'; [Hawken y Martin, 2012](#)), o por la separación

momentánea entre madres y crías (destete temporal, [Rodríguez et al., 1986](#)) para reducir el inicio del estro, sin afectar el desarrollo de los corderos. Las ovejas de pelo son capaces de concebir después de un corto período posparto, mientras amamantan a sus crías ([Oldham et al., 2011](#)) y antes de los 35 días postparto con lactancia controlada y expuestas al carnero, logran aumentar y concentrar el número de ovulaciones, con un protocolo de sincronización del estro con dispositivos intravaginales liberadores de progesterona (CIDR®; [Castillo-Maldonado et al., 2013](#)).

El método artificial más sencillo para inducir la conducta estral y la ovulación en ovejas se realiza con CIDR®, porque imita la presencia de un CL de un ciclo estral natural; y recientemente se discutió su uso, debido a la alteración en la liberación de la LH, la calidad de la ovulación, el bienestar animal y la salud pública; por tanto, es necesario generar protocolos de corta duración, con menos dosis y dispositivos de liberación más efectivos ([Abecia et al., 2011](#)). El manejo reproductivo con PGF2 $\alpha$  es una buena alternativa, porque se metabolizan más rápido en el hígado y no se acumulan en los tejidos ([Davis et al., 1980](#)). La administración de dos dosis de PGF2 $\alpha$  se recomienda para sincronizar el estro en ovejas ciclando, y su respuesta puede variar por la técnica de inseminación, la dosis a aplicar y los intervalos entre dosis ([Fierro et al., 2013](#)).

La bioestimulación se utiliza para reemplazar la función de las hormonas exógenas y mejorar la eficiencia reproductiva en ovinos ([Hawken y Martin, 2012](#)). Así, la introducción del carnero en ovejas aisladas previamente ('efecto macho'), induce un incremento en la pulsatilidad de la LH, lo cual estimula que la secreción de estradiol aumente y se desencadene la luteólisis ([Meilán y Ungerferld, 2014](#)). Aunque falta por demostrar que el 'efecto macho' puede ser suficiente para sustituir la segunda dosis de PGF2 $\alpha$  durante la fase luteal en ovejas ([Ungerfeld, 2011](#)). Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar el 'efecto macho' y su respuesta en la sincronización del estro con progesterona a los 35 días postparto y con dos dosis de PGF2 $\alpha$  a los 45 días postparto en ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo.

#### 4.2.4. Materiales y métodos

##### 4.2.4.1. Localización del área de estudio

Se realizaron dos experimentos con diferente protocolo de sincronización del estro postparto. El primero, con dispositivos intravaginales liberadores de progesterona (CIDR®) durante junio de 2012 a enero de 2013, y el segundo, con prostaglandinas (PG2 $\alpha$ ) durante agosto de 2012 a febrero de 2013, en el Laboratorio de Reproducción de Ovinos y Caprinos (LaROCa) del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, estado de México, localizado a 19°29' N y 98°53' O, a una altitud de 2250 m. El clima es Cb (wo) (w) (i') g, templado subhúmedo con lluvias en verano, precipitación y temperatura promedio anual de 636.5 mm y 15.2°C (García, 2004).

##### 4.2.2.2. Animales experimentales y manejo

Se utilizaron 136 ovejas Pelibuey adultas de partos múltiples, 58 para la sincronización con CIDR®, con un peso de 53.3 $\pm$ 2.1 kg, a los 35 d postparto (PP); y 78 para la sincronización con PGF2 $\alpha$ , con un peso de 56.6 $\pm$ 6.8 kg, a los 45 d PP. Durante el desarrollo del experimento, todas las ovejas PP consumieron 2.0 kg oveja<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> de una dieta integral elaborada con heno molido de avena (70%) mezclado con un concentrado comercial (Anexo 2) que contenía 15% de proteína cruda y 2.9 Mcal de energía metabolizable kg<sup>-1</sup> (30%), sales minerales y agua a libre acceso. Antes de asignarlas a los tratamientos, todas las ovejas se desparasitaron, despezuñaron y se les suministró vitaminas, se mantuvieron en corrales provistos de sombra, comedero, bebedero automático y piso de tierra. El peso se registró cada semana para observar cambios en las ovejas Pelibuey durante la fase experimental para el protocolo de sincronización con CIDR®

##### 4.2.4.3. Manejo del carnero

Previo al estímulo del carnero, todas las ovejas se mantuvieron a una distancia mínima de 100 m del corral de los machos (Walkden-Brown *et al.*, 1993), para evitar el contacto visual, auditivo y olfativo entre ellos; y de esta manera, aumentar el estímulo al momento del 'efecto macho' (EM), el cual consistió en introducir un

carnero Pelibuey adulto, provisto de un mandil (para evitar la cópula), en periodos de 30 min, dos veces al día (8:00 h y 15:00 h) durante 15 d previos a la sincronización del estro postparto con CIDR® o con dos dosis de PGF2 $\alpha$ .

#### 4.2.4.4. Tratamientos y protocolos de sincronización

Para la sincronización PP con CIDR®, las ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo, se asignaron al azar a uno de dos tratamientos: T1, n=29: ovejas estimuladas diariamente con ‘efecto macho’ durante 15 d, previo a la inserción del dispositivo intravaginal (AC+EM+CIDR); y T2, n=29: ovejas sincronizadas con dispositivos intragaginales sin ‘efecto macho’ (AC+CIDR; Figura 11).

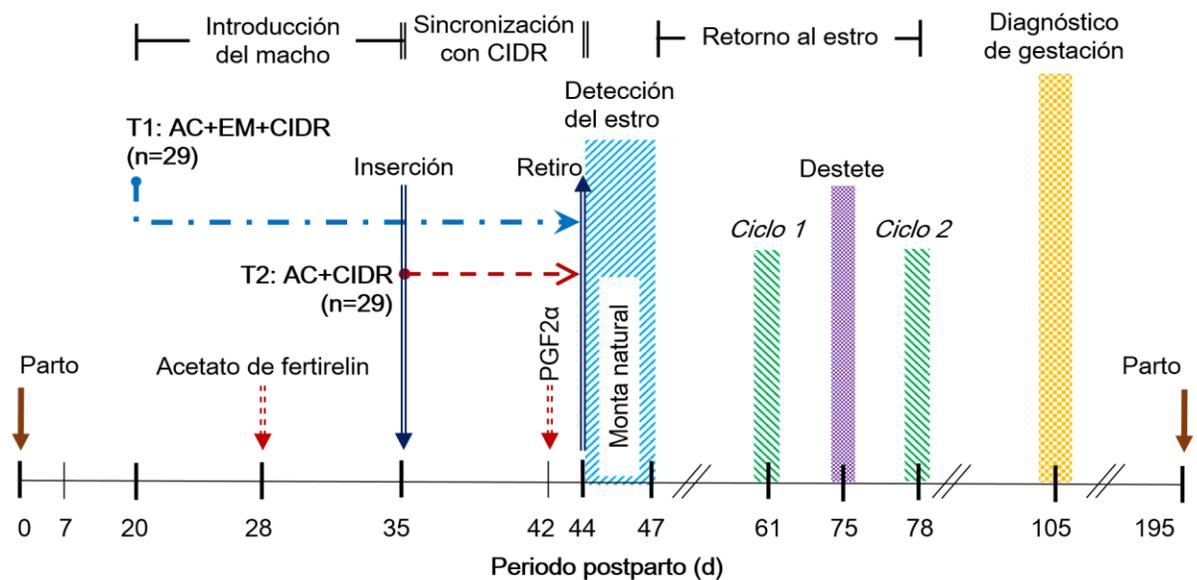


Figura 11. Protocolo de sincronización del estro a los 35 d postparto con dispositivos intravaginales liberadores de progesterona (CIDR®), en ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo (AC+CIDR) y con el estímulo previo del ‘efecto macho’ (AC+EM+CIDR).

En este protocolo, a todas las ovejas se les aplicó vía intramuscular 1 mL de acetato de fertirelin (50 mcg Natalise®, MSD Animal Health; México) siete días antes de la inserción del CIDR®, para inducir un pico preovulatorio de la LH. La sincronización del estro consistió en la inserción de un dispositivo intravaginal (CIDR®, 0.3 g de P<sub>4</sub>; Pfizer) que permaneció durante nueve días y 48 h antes del retiro, se aplicó 1 mL de

prostaglandina sintética (250 mcg de cloprostenol sódico, Celosil®, MSD Animal Health; México), para lisar algún CL presente. Después de retirar el CIDR®, se detectó el estro en las ovejas, al introducir un carnero provisto de un mandil, cada 4 h durante 72 h (Figura 11). Las ovejas que lo presentaron, recibieron dos montas de un carnero Pelibuey, en un intervalo de 12 h.

En la sincronización PP con dos dosis de  $PGF2\alpha$ , las ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo, se asignaron conforme a un diseño completo con tratamientos aleatorizados con un arreglo factorial 2\*2 (Cuadro 7).

Cuadro 7. Experimento factorial en ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo con ‘efecto macho’ y destete temporal a dos niveles cada uno.

Factor	Nivel	B: Destete temporal (DT)	
		b1: sin= s	b2: con= c
A: ‘Efecto macho’ (EM)	a1: sin= s	a1b1 T1: sEMsDT	a1b2 T3: sEMcDT
	a2: con= c	a2b1 T2: cEMsDT	a2b2 T4: cEMcDT

La combinación entre los niveles de ambos factores, generó cuatro tratamientos: T1, n=20: ovejas testigo, sin el estímulo del ‘efecto macho’ y sin realizar el destete temporal, después de la segunda dosis de  $PGF2\alpha$  (54 d PP; sEMsDT); T2, n=20: ovejas sin el estímulo del ‘efecto macho’ y con destete temporal por 48 h después de la segunda dosis de  $PGF2\alpha$  (54 d PP; sEMcDT); T3, n=19: ovejas estimuladas diariamente con ‘efecto macho’ durante 15 d y sin realizar el destete temporal, después de la segunda dosis de  $PGF2\alpha$  (54 d PP); y T4, n=19: ovejas estimuladas diariamente con ‘efecto macho’ durante 15 d y con destete temporal por 48 h después de la segunda dosis de  $PGF2\alpha$  (54 d PP, cEMcDT; Figura 12). En este protocolo, a todas las ovejas se les aplicó dos veces 1 mL de prostaglandina sintética (250 mcg de cloprostenol sódico, Celosil®, MSD Animal Health; México) vía intramuscular a los 45 y 54 d PP; y después de la segunda dosis, se expusieron a un carnero Pelibuey provisto de un mandil, para detectar el estro cada 4 h durante 72 h

(Figura 12). Las ovejas con estro detectado, se separaron y se agruparon en un corral distinto, para recibir la inseminación artificial.

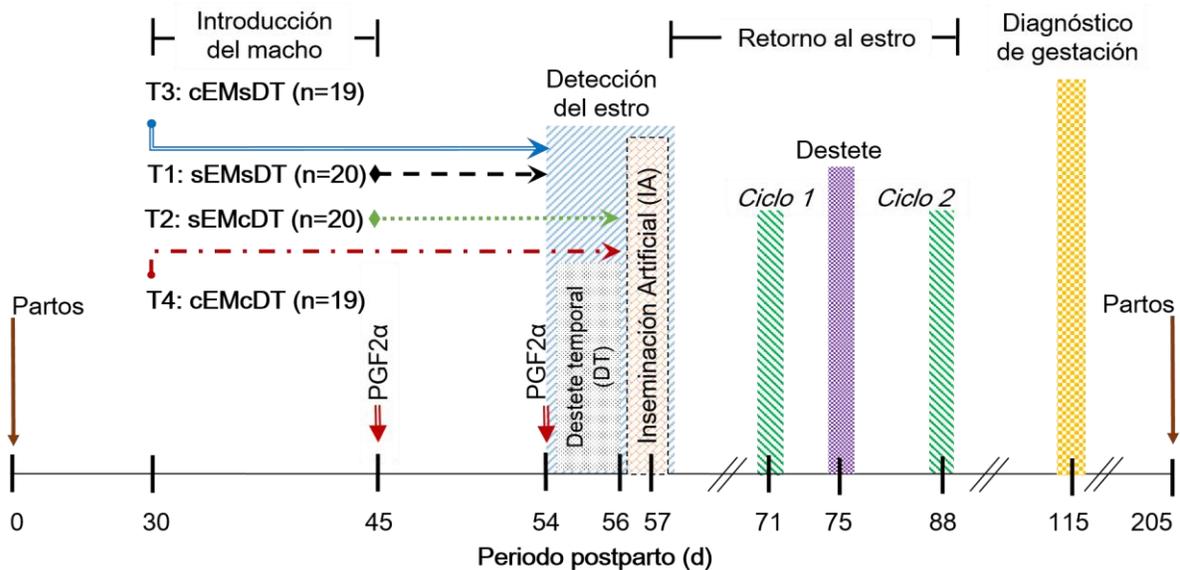


Figura 12. Protocolo de sincronización del estro a los 45 d postparto, con dos dosis de prostaglandinas ( $PGF2\alpha$ ), en ovejas Pelibuey en respuesta al 'efecto macho' (cEMsDT), al destete temporal (sEMcDT), a la interacción de factores (cEMcDT) y al tratamiento testigo (sEMsDT).

#### 4.2.4.5. Modalidad de amamantamiento

Todas las ovejas Pelibuey utilizadas en ambos protocolos de sincronización del estro (CIDR® y  $PGF2\alpha$ ), amamantaron a sus crías en forma continua después del parto hasta el destete (75 d). A los 54 d PP, las ovejas Pelibuey sincronizadas con  $PGF2\alpha$ , que incluyeron el efecto del destete temporal (DT), se separaron y se alojaron en un corral diferente al de sus crías durante un periodo de 48 h, para inducir un pico preovulatorio de la LH (Rodríguez *et al.*, 1986; Figura 12).

#### 4.2.4.6. Inseminación artificial (IA)

Las ovejas Pelibuey sincronizadas con dos dosis de  $PGF2\alpha$ , se inseminaron con la técnica intrauterina por laparoscopia con semen fresco (Cortez-Romero *et al.*, 2011). Las ovejas se mantuvieron sin dieta sólida y líquida durante 24 h previo a la IA, para evitar punciones accidentales en el rumen o en la vejiga urinaria. Se utilizaron dos

camillas pivotantes sistematizadas, para sujetar e inmovilizar a la oveja en decúbito dorsal e inclinarla a un ángulo de 45°, de modo que las vísceras se desplazaran en sentido craneal (McKelvey *et al.*, 1985). En seguida, se les depiló la región abdominal anterior a la ubre y se les desinfectó con solución yodada.

#### 4.2.4.7. Retorno al estro

En ambos protocolos de sincronización del estro (CIDR® y PGF2 $\alpha$ ), se detectó la cantidad de ovejas que retornaron al estro, al introducir un carnero Pelibuey adulto provisto de un mandil, en periodos de 60 min d<sup>-1</sup> (9:00 h y 16:00 h) durante 34 d posterior a la IA (aproximadamente la duración de dos ciclos estrales normales; Figuras 11 y 12).

#### 4.2.4.8. Diagnóstico de gestación

La cantidad de ovejas gestantes se determinó por medio de un transductor abdominal de 7.5 Mhz integrado a un equipo de ultrasonografía a tiempo real (SONOACE Pico) a los 60 d después de la inseminación, en ambos protocolos de sincronización del estro (CIDR® y PGF2 $\alpha$ ).

#### 4.2.4.9. Variables de estudio

- Ovejas en estro (n). Cantidad de hembras que presentaron estro en respuesta a la sincronización con progesterona o con PGF2 $\alpha$ , expresado en porcentaje.
- Inicio del estro (h). Tiempo transcurrido desde el retiro del CIDR®, o después de la segunda dosis de PGF2 $\alpha$ , hasta que la oveja manifestó signos de estro.
- Retorno al estro (n). Cantidad de ovejas que presentaron estro después de la inseminación por monta natural o por laparoscopia, expresado en porcentaje.
- Gestación (%). Cantidad de ovejas gestantes respecto al total de hembras inseminadas que no retornaron al estro; multiplicado por 100.
- Partición (%). Cantidad de ovejas paridas respecto al total de ovejas gestantes, multiplicado por 100.
- Prolificidad (n). Cantidad de crías nacidas con respecto al total de ovejas paridas de cada tratamiento.

- Fecundidad (n). Cantidad de crías nacidas con respecto al total de ovejas de cada tratamiento.
- Cambios de peso (kg). Peso corporal de las ovejas registrado cada semana durante el desarrollo del experimento.

#### 4.2.4.10. Análisis estadístico

Se utilizó el software Statistical Analysis Systems® ([SAS Institute Inc, 2012](#)) para el análisis de los datos. En el protocolo de sincronización con PGF2 $\alpha$ , se utilizó un arreglo factorial 2\*2, en el cual se incluyeron dos factores, A: 'efecto macho', EM; y B: destete temporal, DT, cada uno a dos niveles (a<sub>1</sub> y b<sub>1</sub>: sin, "s"; a<sub>2</sub> y b<sub>2</sub>: con, "c"), la combinación entre los niveles de ambos factores, generó los tratamientos experimentales aleatorizados en un diseño completo (DCA), cuyo modelo es el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + E_{ij}$$

Donde:

$Y_{ijk}$ = Variable respuesta en la repetición  $k$ , nivel  $j$  de B, nivel  $i$  de A.

$\mu$ = Media general

$A_i$ = Efecto del factor A al nivel  $i$

$B_j$ = Efecto del factor B al nivel  $j$

$(AB)_{ij}$ = Efecto de la interacción AB al nivel  $i, j$

$E_{ij}$ = Error aleatorio

Las variables de respuesta al estro, retorno al estro, tasa de gestación y tasa de parición, se analizaron con un modelo de regresión logística mediante el procedimiento PROC LOGISTIC con la prueba de Wald, cuyo modelo es el siguiente:

$$P(Y/X) = \frac{e^{\beta_0 + \beta_1 X}}{1 + e^{\beta_0 + \beta_1 X}}$$

Donde:

$P(Y/X)$ : Probabilidad de que una oveja presentó estro, retornó al estro, se gestó y parió, dado el tratamiento  $X$ .

e: 2.71

$\beta_0$  y  $\beta_1$ : Coeficientes del modelo

Y: Respuesta (si o no)

X: Tratamiento

Para el inicio del estro, se realizó la prueba de [Shapiro y Wilk \(1965\)](#) para observar normalidad univariada y justificar el análisis con el método de curvas de supervivencia de Kaplan Meier y la Regresión de Cox ([Salinas, 2008](#)); y se usó la prueba de Log-Rank, mediante el procedimiento LIFETEST, con el siguiente modelo:

$$H(t) = H(t)_0 * e^{(X_1*\beta_1 + X_2*\beta_2 + X_k*\beta_k)}$$

Donde:

H(t): función de riesgo (hazard ratio) de que la cordera inicie el estro al tiempo t.

H(t)<sub>0</sub>: función de riesgo mínima al tiempo t.

X<sub>k</sub>: variable predictora k

$\beta_k$ : constante asociada a la variable k.

El cambio de peso de las ovejas Pelibuey postparto sincronizadas con CIDR®, se comparó con un análisis de varianza para modelos lineales (PROC GLM), para el análisis de medidas repetidas en el tiempo. Se utilizó la prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ), para la comparación de medias por efecto de tratamientos y para la interacción *tratamiento\*periodo*, en un diseño completo con tratamientos aleatorizados, con el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + d_{j(i)} + P_k + (TP)_{ik} + E_{ijk}$$

$i = 1 \dots t, j = 1 \dots r, k = 1 \dots n$

Donde:

$Y_{ijk}$  = Variable respuesta en la k-ésima observación

$\mu$  = Media general

$T_i$  = Efecto del i-ésimo tratamiento

$d_{ji}$ = Error aleatorio asociado dentro con la  $j$ -ésima oveja dentro del  $i$ -ésimo tratamiento

$P_k$ = Efecto del  $k$ -ésimo periodo

$(TP)_{ik}$ = Efecto de la interacción *tratamiento\*periodo*

$E_{ijk}$ = Error aleatorio asociado con la  $k$ -ésima medida repetida dentro de la  $j$ -ésima oveja

#### 4.2.5. Resultados

##### 4.2.5.1. Sincronización del estro postparto con dispositivos intravaginales (CIDR®)

##### 4.2.5.1.1. Respuesta a la sincronización del estro

El estímulo del ‘efecto macho’ no influyó ( $p>0.05$ ) en la respuesta al estro, pero adelantó ( $p<0.05$ ) el inicio del estro en respuesta a la sincronización de las ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo, a los 35 d PP (Cuadro 8). El porcentaje de retorno al estro, fue mayor ( $p<0.05$ ) en las ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo sin ‘efecto macho’. Sin embargo, la duración del retorno al estro fue menos prolongado ( $p<0.05$ ) en aquellas con ‘efecto macho’ (Cuadro 8).

Cuadro 8. Respuesta a la sincronización del estro en ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo estimuladas con ‘efecto macho’ (AC+EM+CIDR) y sin ‘efecto macho’ (AC+CIDR).

Tratamientos	n	Hembras en estro		Inicio de estro (h)	Hembras en retorno		Duración del retorno <sup>†</sup> (d)
		n	%		n	%	
T1: AC+EM+CIDR	29	29	100.0 <sup>a</sup>	37.5 ± 2.5 <sup>a</sup>	5	17.2 <sup>a</sup>	20.6 ± 0.3 <sup>a</sup>
T2: AC+CIDR	29	27	93.1 <sup>a</sup>	46.6 ± 3.7 <sup>b</sup>	12	44.4 <sup>b</sup>	27.5 ± 1.8 <sup>b</sup>

<sup>a, b</sup>: Valores con distinta literal en la misma columna son diferentes ( $p<0.05$ ).

<sup>†</sup>Media ± error estándar.

##### 4.2.5.1.2. Tasa de gestación y parición

En la sincronización del estro con dispositivos intravaginales en ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo, el ‘efecto macho’ aumentó ( $p<0.05$ ) 27.2% la tasa de gestación (AC+EM+CIDR: 82.8% y AC+CIDR: 55.6%, respectivamente); pero no

influyó ( $p>0.05$ ) en la tasa de parición (AC+EM+CIDR: 95.8% y AC+CIDR: 86.7%, respectivamente; [Anexo 14](#)).

#### 4.2.5.1.3. Prolificidad y fecundidad

El 'efecto macho' no incrementó ( $p>0.05$ ) la prolificidad (AC+EM+CIDR:  $2.0\pm 0.2$  crías y AC+CIDR:  $2.2\pm 0.2$  crías, respectivamente), pero aumentó ( $p<0.05$ ) la fecundidad (AC+EM+CIDR:  $1.6\pm 0.2$  crías y AC+CIDR:  $0.9\pm 0.2$  crías, respectivamente; [Anexo 15](#)), en las ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo en respuesta a la sincronización del estro con dispositivos intravaginales, a los 35 d PP.

#### 4.2.5.1.4. Cambio de peso

No se observaron diferencias ( $p>0.05$ ) en el peso de las ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo, entre tratamientos para cada periodo de evaluación. A los 15 d PP, se registró un peso de 54.7 kg en las ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo estimuladas con 'efecto macho' y en aquellas sin éste estímulo. A los 78 d PP, se registró un peso de 54.3 kg en las ovejas con AC+EM+CIDR y de 54.4 kg en aquellas con AC+CIDR.

La interacción *tratamiento\*periodo* influyó ( $p<0.05$ ) en el cambio de peso a los 29, 36, 57, 64, y 71 d PP de la fase experimental para las ovejas con AC+EM+CIDR; y en aquellas con AC+CIDR, se observó a los 22, 43, 57 y 64 d PP de la fase experimental ([Anexo 16](#)).

#### 4.2.5.2. Sincronización del estro postparto con prostaglandinas (PGF $2\alpha$ )

##### 4.2.5.2.1. Respuesta a la sincronización del estro

El 'efecto macho' y el destete temporal no influyeron ( $p>0.05$ ) en la respuesta a la sincronización de estro postparto, y este efecto fue similar ( $p>0.05$ ) al de las ovejas testigo (Cuadro 9). Las ovejas con 'efecto macho' y con destete temporal tuvieron mejor respuesta ( $p<0.05$ ) al estro. En contraste, el inicio del estro fue similar ( $p>0.05$ ; [Anexo 17](#)) entre tratamientos (Cuadro 9).

Cuadro 9. Respuesta a la sincronización del estro con prostaglandinas en ovejas Pelibuey postparto con dos niveles de 'efecto macho' y de destete temporal.

Tratamiento	n	Ovejas en estro		Inicio de estro <sup>†</sup> (h)
		(n)	(%)	
T1: Ovejas testigo	20	6	30.0 <sup>a</sup>	14.6 ± 1.8 <sup>a</sup>
T2: Ovejas sin 'efecto macho' y con destete temporal	19	11	57.9 <sup>a</sup>	60.2 ± 6.4 <sup>a</sup>
T3: Ovejas con 'efecto macho' y sin destete temporal	20	10	50.0 <sup>a</sup>	46.3 ± 4.6 <sup>a</sup>
T4: Ovejas con 'efecto macho' y con destete temporal	19	15	78.9 <sup>a</sup>	39.6 ± 6.1 <sup>a</sup>

<sup>a, b</sup>: Valores con misma literal en una columna son similares ( $p > 0.05$ ).

<sup>†</sup>Media ± error estándar.

#### 4.2.5.2.2. Retorno al estro

El 'efecto macho' y el destete temporal no influyeron ( $p > 0.05$ ) en el porcentaje de retorno al estro, y este efecto fue similar ( $p > 0.05$ ) al observado en las ovejas testigo. Las ovejas con 'efecto macho' y con destete temporal redujeron ( $p < 0.05$ ) el porcentaje de retorno al estro y la duración del retorno al estro (Cuadro 10).

Cuadro 10. Retorno al estro en ovejas Pelibuey postparto con dos niveles de 'efecto macho' y de destete temporal.

Tratamiento	Ovejas en retorno		Duración del retorno (d)
	(n)	(%)	
T1: Ovejas testigo	1	16.7 <sup>a</sup>	21.0 <sup>a</sup>
T2: Ovejas sin 'efecto macho' y con destete temporal	3	27.3 <sup>a</sup>	20.1 <sup>a</sup>
T3: Ovejas con 'efecto macho' y sin destete temporal	1	10.0 <sup>ab</sup>	11.0 <sup>ab</sup>
T4: Ovejas con 'efecto macho' y con destete temporal	1	6.7 <sup>b</sup>	8.0 <sup>b</sup>

<sup>a, b</sup>: Valores con distinta literal en la misma columna son diferentes ( $p < 0.05$ ).

<sup>†</sup>Media ± error estándar.

#### 4.2.5.2.3. Tasa de gestación y parición

El 'efecto macho', el destete temporal, así como su interacción, no influyeron ( $p>0.05$ ) en las tasas de gestación y parición de las ovejas Pelibuey postparto, en respuesta al protocolo de sincronización PGF2 $\alpha$  ([Anexo 18](#)).

#### 4.2.5.2.4. Prolificidad y fecundidad

El 'efecto macho', el destete temporal, así como su interacción, no influyeron ( $p>0.05$ ) en la prolificidad de las ovejas Pelibuey postparto, y este efecto fue similar ( $p>0.05$ ) al observado en las ovejas testigo (Cuadro 11). El 'efecto macho' y el destete temporal no incrementaron ( $p>0.05$ ) la fecundidad de las ovejas Pelibuey postparto, y este efecto fue similar ( $p>0.05$ ) al observado en las ovejas testigo; sin embargo, las ovejas con 'efecto macho' y con destete temporal en forma conjunta aumentaron ( $p<0.05$ ) la fecundidad (Cuadro 11).

Cuadro 11. Cantidad de crías nacidas en ovejas Pelibuey postparto con dos niveles de 'efecto macho' y de destete temporal.

Tratamiento	n	Ovejas paridas (n)	Corderos nacidos (n)	Prolificidad <sup>†</sup>	Fecundidad <sup>†</sup>
T1: Ovejas testigo	20	5	8	1.6 ± 0.2 <sup>a</sup>	0.4 ± 0.2 <sup>a</sup>
T2: Ovejas sin 'efecto macho' y con destete temporal	19	8	16	2.0 ± 0.3 <sup>a</sup>	0.8 ± 0.3 <sup>ab</sup>
T3: Ovejas con 'efecto macho' y sin destete temporal	20	8	16	1.8 ± 0.2 <sup>a</sup>	0.8 ± 0.2 <sup>ab</sup>
T4: Ovejas con 'efecto macho' y con destete temporal	19	14	30	2.1 ± 0.1 <sup>a</sup>	1.6 ± 0.2 <sup>b</sup>

<sup>a, b</sup>: Valores con distinta literal en la misma columna son diferentes ( $p<0.05$ ).

<sup>†</sup>Media ± error estándar.

#### 4.2.6. Discusión

Respuesta a la sincronización del estro

En la actualidad, los protocolos de manejo reproductivo usan progestágenos o prostaglandinas exógenas y como método no hormonal, el 'efecto macho' ([Abecia et al., 2012](#)). La introducción del carnero aumenta la secreción de la LH, incrementa el

desarrollo folicular y la producción de estradiol, lo cual resulta en un rápido inicio del estro ([Evans et al., 2004](#)) y los análogos de la GnRH se incluyen en los protocolos de sincronización para favorecer la duración del estro y la ovulación en ovejas ([Sirjani et al., 2012](#)).

[Castillo-Maldonado et al. \(2013\)](#) reportaron 100% de estros, mientras que [Ungerfeld y Sánchez-Dávila \(2012\)](#) obtuvieron 96.2%, lo cual coincide con la respuesta al estro de las ovejas Pelibuey sincronizadas con CIDR®, en el presente estudio. [Jordan et al. \(2009\)](#) utilizaron análogos de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y progesterona (P<sub>4</sub>) en ovejas con 'efecto macho' y no encontraron diferencias en la respuesta reproductiva de ovejas en anestro. Así, la incidencia del estro puede diferir porque los protocolos de manejo reproductivo se realizaron en diferentes días postparto (PP). La respuesta al estro en las ovejas sincronizadas con CIDR® en el presente estudio, no se afectó por el estímulo del amamantamiento; quizás el contacto diario con el macho, previo a la inserción del CIDR®, estimuló el cambio en la frecuencia de los pulsos de la LH ([Hawken y Martin, 2012](#)) y favoreció la ovulación, por la adecuada liberación de la LH y la FSH, en respuesta al suministro del acetato de fertirelin ([Soto-Belloso et al., 1998](#)). Además, es posible que la atresia de algún folículo dominante, resultó en una nueva onda folicular en forma sincronizada ([Martemucci y D'Alessandro, 2011](#)). Así, el estro se presentó por el adecuado pico endógeno de la LH ([Olivera-Muzante et al., 2013](#)) y permitió la sincronización postparto en la mayoría de las ovejas Pelibuey.

En la inducción de la luteólisis, se elimina el cuerpo lúteo (CL) y se induce la fase folicular con la ovulación ([Abecia et al., 2012](#)). Las dos aplicaciones de prostaglandinas (PGF<sub>2</sub>α) con intervalos de 10 d entre dosis, resultó similar en 84% y 88% de respuesta al estro ([Das et al., 1999](#)). Estos resultados se asemejan a los obtenidos en las ovejas Pelibuey sincronizadas con PGF<sub>2</sub>α en el presente estudio; pero difieren con el 42.6% de estro reportados por [Olivera-Muzante et al. \(2013\)](#). La presentación del estro en las ovejas Pelibuey con 'efecto macho' y con destete temporal en forma conjunta, en el presente estudio, se atribuye a la diferencia entre

dosis e intervalos de aplicación de las  $\text{PGF2}\alpha$ , con respecto a lo indicado en otros estudios; debido a que la reducción de dosis dobles con 9 a 10 d de diferencia entre aplicación de algún análogo de  $\text{PGF2}\alpha$ , puede inducir la luteólisis y reducir los costos por tratamientos (Contreras-Solís *et al.*, 2009). Camacho-Ronquillo *et al.* (2008) reportaron 35.7% de estro en ovejas Pelibuey sin restricción del amamantamiento, sincronizadas con  $\text{PGF2}\alpha$  a los 30 d y 40 d PP, lo cual se asemeja a la respuesta de las ovejas Pelibuey con destete temporal, pero difiere en un 50% en comparación con la respuesta al estro en las ovejas con 'efecto macho', en el presente estudio.

La separación de los corderos por 72 h, aumenta la ovulación, reduce el inicio del estro en las ovejas y no afecta el crecimiento ni el desarrollo de las crías (Rodríguez *et al.*, 1986). También la proporción de ovejas en estro, aumenta al introducir carneros al momento de aplicar la segunda dosis de  $\text{PGF2}\alpha$  (Ungerfeld, 2011). Por tanto, la interacción del 'efecto macho' (antes de aplicar la primera dosis de  $\text{PGF2}\alpha$ ) con el destete temporal (posterior a la segunda dosis de  $\text{PGF2}\alpha$ ), se reflejó en la respuesta a la sincronización del estro en las ovejas Pelibuey en el presente estudio.

#### Inicio del estro

Esta variable difiere con el protocolo de sincronización y el estado fisiológico de las ovejas, como las 72 h reportadas por Castillo-Maldonado *et al.* (2013), las cuales son superiores a las obtenidas en las ovejas Pelibuey sincronizadas con CIDR® en el presente estudio. En protocolos con  $\text{PGF2}\alpha$ , se reportó que el estro se presentó a las  $36\pm 2.3$  h (Letelier *et al.*, 2011) y entre las  $38.6\pm 0.5$  a las  $51.6\pm 2.4$  h (Fierro *et al.*, 2013). Estos resultados son mayores al obtenido en las ovejas testigo en la sincronización con  $\text{PGF2}\alpha$  en el presente estudio. La introducción del carnero influye en el inicio del estro, según el fármaco aplicado en la sincronización del estro, como al introducir carneros vasectomizados después de aplicar la segunda dosis de  $\text{PGF2}\alpha$  para adelantar el inicio del estro (Ungerfeld, 2011). En el presente estudio, el 'efecto macho' ni la interacción con el destete temporal influyeron en el inicio del estro en la sincronización con  $\text{PGF2}\alpha$ ; diferente a lo observado en la sincronización con CIDR® y 'efecto macho'. La presencia del carnero en ovejas con amamantamiento induce el

estro durante el periodo postparto ([Arteaga et al., 2007](#)). Por tanto, es probable que la acción del acetato de fertirelin y el estímulo del carnero, favorecieron la respuesta al estro en las ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo, en la sincronización con CIDR® a los 35 d PP; debido a que la respuesta a la sincronización del estro en ovejas, se mejora por la acción del ‘efecto macho’ y de los análogos de la GnRH ([Mirzaei et al., 2011](#)).

#### Retorno al estro

[Castillo-Maldonado et al. \(2013\)](#) no reportaron tasa de retorno al estro, diferente al 16% publicado por [Ungerfeld y Sánchez-Dávila \(2012\)](#), resultados que difieren con los obtenidos en el presente estudio, donde se observó que el ‘efecto macho’ influyó en el porcentaje de retorno al estro en la sincronización con CIDR®, pero con PGF2 $\alpha$ , la tasa de retorno al estro se redujo. Estos contrastes, quizás se deben al efecto de interacción con el destete temporal; sin embargo, las ovejas retornaron al estro más pronto, posiblemente como consecuencia de la disminución de progesterona (P<sub>4</sub>), debido a que el oviducto y el ambiente uterino no fueron adecuados para mantener el desarrollo embrionario ([Olivera-Muzante et al., 2013](#)). Lo anterior se atribuye a que durante la sincronización del estro, las ovejas son sensibles a los factores ambientales que influyen en los procesos reproductivos, como el estrés térmico ([Naqvi et al., 2004](#)), donde las bajas concentraciones de P<sub>4</sub>, se relacionan con el retraso en el desarrollo embrionario y resulta una falla en la concepción. Al respecto, las diferencias en la concentración de P<sub>4</sub> se atribuyen a la falta de atresia de algún folículo dominante y no se promueva la formación de un CL normal, o se genere algún CL de corta duración. La falta de P<sub>4</sub> se asocia con el síndrome del “cuerpo lúteo de corta duración” (CLCD), cuando la ovulación se induce durante el anestro en ovejas ([Rodríguez-Iglesias et al., 2013](#)), el cual se debe a la luteólisis anticipada, que se activa cuando el CL es sensible a las PGF2 $\alpha$ ; y en ovejas, se produce de 3 a 4 días después de la ovulación ([Rubianes et al., 2003](#)).

## Tasa de gestación

[Castillo-Maldonado et al. \(2013\)](#) obtuvieron 83.3% de gestación, mientras que [Ungerfeld y Sánchez-Dávila \(2012\)](#) reportaron 80.1%, lo cual coincide con la respuesta obtenida en ovejas sincronizadas con CIDR® estimuladas con 'efecto macho, y difiere con aquellas sin 'efecto macho', en el presente estudio. Es posible que el estímulo del carnero y la acción del acetato de fertirelin, no favorecieron la tasa de gestación y quizás el 'efecto macho' determinó la diferencia. Es probable que el suministro del acetato de fertirelin, favoreció a la mayoría de las ovejas para presentar CL menos activos, lo cual dio oportunidad al desarrollo folicular y a la sincronización del estro; mientras que el 'efecto macho', estimuló la actividad folicular y aumentó las concentraciones de P<sub>4</sub> en las ovejas Pelibuey con amanatamiento continuo y con 'efecto macho' y por consiguiente, se reflejó en la tasa de gestación. Estas aseveraciones, se relacionan con las señales del embrión, las cuales requieren la P<sub>4</sub> producida por el CL para el establecimiento y mantenimiento de la gestación, debido a que las hormonas del trofoblasto son antiluteolíticas y actúan sobre el endometrio uterino para evitar la liberación de PGF<sub>2</sub>α luteolítica ([Spencer y Bazer, 2004](#)).

En protocolos de sincronización con PGF<sub>2</sub>α, [Olivera-Muzante et al. \(2013\)](#) reportaron 84.7% y 65.26% de retorno al estro, lo cual se reflejó en un menor porcentaje de gestación. La técnica de inseminación influye en el porcentaje de gestación, como el 62% de ovejas gestantes sincronizadas con dos dosis de PGF<sub>2</sub>α e inseminadas por laparoscopia ([Fierro et al., 2011](#)), superior al 42.6% de ovejas gestantes inseminadas a tiempo fijo ([Olivera-Muzante et al., 2013](#)). Estos resultados difieren con el porcentaje de gestación obtenido en la sincronización con PGF<sub>2</sub>α en el presente estudio. La proporción de ovejas gestantes que respondieron a la sincronización y no retornaron al estro, se reflejó en la fertilización. Los valores menores al 80% de gestación en la sincronización con CIDR® y con PGF<sub>2</sub>α en el presente estudio, quizás resultaron por alguna falla en la ovulación, la falta de fertilización, el desarrollo de un CL anormal que no pudo mantener el desarrollo embrionario, o por la muerte del embrión antes o después del reconocimiento materno de la gestación ([Fierro et](#)

*al.*, 2013). La aplicación de la segunda dosis de  $\text{PGF2}\alpha$  durante la fase media luteal, provoca una asincronía entre ondas foliculares que determinan la presencia de folículos en diferentes etapas (crecimiento, permanencia o regresión del folículo) y originan un largo tiempo de vida del folículo ovulatorio, o la ovulación de los folículos recién emergidos (*Barret et al.*, 2002). Por tanto, es común obtener baja respuesta reproductiva después de inseminar a tiempo fijo con  $\text{PGF2}\alpha$ , debido a que la proporción de folículos ovulatorios procedentes de la segunda oleada folicular, resulta con menor ovulación sincronizada, que la reducción de la probabilidad de concepción, al inseminar 48 h después de la segunda dosis de  $\text{PGF2}\alpha$  (*Olivera-Muzante et al.*, 2011).

#### Tasa de parición

La información que existe respecto a la tasa de parición en ovejas postparto, en respuesta a la inducción del estro durante la época reproductiva es poca. *Castillo-Maldonado et al.* (2013) reportaron 100% de partos en ovejas Pelibuey, lo cual se asemeja con la tasa de parición de las ovejas Pelibuey sincronizadas con CIDR®, en el presente estudio. Es posible que las ovejas no mantuvieron la gestación debido a una muerte fetal, ocasionada por una falla endócrina durante el establecimiento del feto o la cantidad de  $\text{P}_4$  no fue suficiente para mantenerlo (*Bari et al.*, 2003). Este efecto se observó en las ovejas Pelibuey postparto con 'efecto macho' en la sincronización con  $\text{PGF2}\alpha$  en el presente estudio; lo cual se relaciona con los factores de manejo asociados con la IA que modifican la fertilidad. En la planificación reproductiva, los intervalos entre partos, la época reproductiva, la edad de la madre, el estrés por calor, el estado nutricional o la raza, influyen negativamente. *Dixon et al.* (2007) reportaron 19.9% de pérdida tardía embrionaria y estimaron que el 21.2% se perdió a partir del día 25 postinseminación transcervical con semen congelado; por tanto, el tipo de inseminación influye en la respuesta de las ovejas Pelibuey en la sincronización con CIDR® y con  $\text{PGF2}\alpha$  en el presente estudio, debido al número de servicios y al tiempo de inseminación, porque difieren entre la inseminación artificial y la monta natural (*Kumar y Naqvi*, 2014).

## Fecundidad y prolificidad

Las tres variables principales que contribuyen en la prolificidad son la tasa ovulatoria, la supervivencia embrionaria y la fetal (Martin *et al.* 2004). Castillo-Maldonado *et al.* (2013) reportaron  $1.8 \pm 0.2$  crías de prolificidad y 1.42 crías de fecundidad, lo cual difiere con lo obtenido en las ovejas Pelibuey sincronizadas con CIDR® en el presente estudio. Estas diferencias se relacionan con la inclusión del acetato de fertirelin, el cual indujo el desarrollo folicular ovárico y un CL funcional por la liberación de la LH y la FSH (Karaca *et al.*, 2009), y aumentó el número de ovulaciones e incrementó la prolificidad (Sirjani *et al.*, 2012) o la fecundidad (Titi *et al.*, 2010). Los análogos de la GnRH en la sincronización con PGF2 $\alpha$ , aumentan la prolificidad en ovejas (1.7 crías; Martemucci y D'Alessandro, 2011), o no se afecta, pero la fecundidad incrementa al aplicar la GnRH 24 h después de la segunda dosis de PGF2 $\alpha$  (Olivera-Muzante *et al.*, 2013). Fierro *et al.* (2011) reportaron prolificidad de 1.3 crías y fecundidad de 0.8 crías, lo cual coincide con los resultados obtenidos en las ovejas Pelibuey sincronizadas con PGF2 $\alpha$ , en el presente estudio. Estos resultados se atribuyen al 'efecto macho', al tipo de inseminación y a los protocolos de sincronización realizados en el presente estudio, debido a que después de introducir el macho, la descarga preovulatoria de la LH ocurre en 3 a 30 h y la ovulación se presenta en 24 a 60 h. Sin embargo, la ovulación inducida por el 'efecto macho', no va precedida por signos de estro y se caracteriza por ciclos estrales cortos (menores de siete días) y de baja secreción de P<sub>4</sub> luteal; es decir, se observan CL de corta duración y "estros silenciosos", y después se establecerán en ciclos estrales normales y serán fértiles (Oldham y Martin, 1978).

## Cambio de peso

Franco-Guerra *et al.* (2012) señalaron que la modalidad de amamantamiento influye en la pérdida de peso, al observar que las ovejas con amamantamiento restringido o con destete precoz pierden menos peso, comparadas con las de amamantamiento continuo. Lo anterior, no corresponde al efecto observado en el cambio de peso de las ovejas Pelibuey sincronizadas con CIDR® en el presente estudio, pero coincide con lo publicado por Morales-Terán *et al.* (2011) y Castillo-Maldonado *et al.* (2013),

quienes reportaron que el cambio de peso no se afectó en ovejas Pelibuey postparto, por la modalidad del amamantamiento o por la presencia o la ausencia del carnero.

#### 4.2.7. Conclusiones

El 'efecto macho' reduce el inicio del estro, disminuye el porcentaje y la duración del retorno al estro, aumenta la tasa de gestación y mejora la fecundidad, pero no afecta la respuesta al estro, el porcentaje de parición y la prolificidad, en respuesta a la sincronización del estro con progesterona en ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo, a los 35 días postparto.

El 'efecto macho' no afecta el peso de las ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo, sin embargo, influye en el cambio de peso durante el periodo de evaluación.

El estímulo del 'efecto macho' o la acción del destete temporal, no influyen en el inicio del estro, en la tasa de gestación, la tasa de parición y en la prolificidad, sin embargo, realizarlos en forma conjunta, mejora la respuesta al estro, reduce el porcentaje y la duración del retorno al estro y aumenta la fecundidad, en respuesta a la sincronización con dos dosis de prostaglandinas en ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo, a los 45 días postparto.

### **4.3. INDUCCIÓN DEL ESTRO EN OVEJAS PREPÚBERES Y SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO EN OVEJAS PELIBUEY POSTPARTO CON DISPOSITIVOS INTRAVAGINALES REUTILIZADOS Y ‘EFECTO MACHO’**

#### 4.3.1. Resumen

Con el objetivo de evaluar el ‘efecto macho’ (EM) y su respuesta en la sincronización del estro con dispositivos intravaginales liberadores de progesterona reutilizados (CIDRr), se realizaron dos experimentos en ovejas Pelibuey. En el primero, 33 ovejas prepúberes se indujeron al estro, y en el segundo, el estro postparto se les sincronizó a 30 ovejas. En ambos experimentos, las ovejas se asignaron a uno de dos tratamientos, en la inducción al estro: T1, n=16: ovejas con ‘efecto macho’ durante 15 d previos a la inserción del dispositivo reutilizado (EM+CIDRr); y T2, n=17: ovejas sincronizadas sin ‘efecto macho’ (sEM+CIDRr); en la sincronización del estro postparto: T1, n=15: ovejas con amamantamiento continuo estimuladas con ‘efecto macho’ durante 15 d previos a la inserción del dispositivo reutilizado (AC+EM+CIDRr); y T2, n=15: ovejas con amamantamiento continuo sincronizadas sin ‘efecto macho’ (AC+CIDRr). En la inducción al estro, el ‘efecto macho’ no influyó en la respuesta al estro ( $p>0.05$ , 93.8% y 70.6%), la tasa de gestación ( $p>0.05$ , 80.0% y 66.7%), la tasa de parición ( $p>0.05$ , 100% y 100%) y la prolificidad ( $p>0.05$ ,  $1.3\pm 0.3$  crías y  $1.1\pm 0.2$  crías); pero adelantó el inicio del estro ( $p<0.05$ ,  $39.7\pm 5.0$  h y  $59.2\pm 2.9$  h), redujo el porcentaje de retorno al estro ( $p<0.05$ , 20.0% y 33.3%) e incrementó la fecundidad ( $p<0.05$ ,  $0.6\pm 0.2$  crías y  $0.5\pm 0.2$  crías) en ovejas prepúberes con EM+CIDRr y sEM+CIDRr, respectivamente. En la sincronización del estro, el ‘efecto macho’ no influyó en la respuesta al estro ( $p>0.05$ , 93.3% y 73.3%), el porcentaje de retorno al estro ( $p>0.05$ , 20.0% y 33.3%), la tasa de gestación ( $p>0.05$ , 78.6% y 54.6%), la tasa de parición ( $p>0.05$ , 100% y 100%) y la prolificidad ( $p>0.05$ ,  $2.4\pm 0.2$  crías y  $2.2\pm 0.3$  crías); pero adelantó el inicio del estro ( $p<0.05$ ,  $31.2\pm 3.2$  h y  $57.1\pm 3.3$  h) e incrementó la fecundidad ( $p<0.05$ ,  $1.7\pm 0.3$  crías y  $0.9\pm 0.3$  crías) en ovejas Pelibuey postparto con AC+EM+CIDRr y AC+CIDRr, respectivamente. El ‘efecto macho’ no afectó ( $p>0.05$ ) el peso de las ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo y tampoco influyó ( $p>0.05$ ) en el cambio de peso durante

el periodo de evaluación postparto. En los protocolos que incluyen dispositivos intravaginales reutilizados, el 'efecto macho' adelanta el inicio del estro, reduce el porcentaje de retorno al estro y aumenta la fecundidad en ovejas Pelibuey prepúberes inducidas al estro. En la sincronización del estro postparto, el 'efecto macho' adelanta el inicio del estro y aumenta la fecundidad en ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo.

Palabras clave: CIDR reutilizado, carnero, amamantamiento continuo, pubertad, fecundidad.

#### 4.3.2. Abstract

In order to evaluate the 'male effect' (ME) in estrous synchronization with reused releasing progesterone intravaginal devices (CIDRr), two experiments in Pelibuey ewes were conducted. In first, 33 ewe lambs were induced to oestrus; in second, 30 postpartum ewes were synchronized to estrous. In both experiments, ewes were assigned to one of two treatments, in estrous induction: T1, n=16: ewes with 'male effect' during 15 d before reused device insertion (ME+CIDRr); and T2, n=17: ewes were synchronized without 'male effect' (woME+CIDRr); in postpartum estrous synchronization: T1, n=15: ewes with continuous suckling with 'male effect', before reused device insertion (CS+ME+CIDRr); and T2, n=15: ewes with continuous suckling were synchronized without 'male effect' (CS+CIDRr). In estrous induction, the 'male effect' did not influence in the estrous response ( $p>0.05$ , 93.8% and 70.6%), the pregnancy rate ( $p>0.05$ , 80.0% and 66.7%), the calving rate ( $p>0.05$ , 100% and 100%) and prolificacy ( $p>0.05$ ,  $1.3\pm 0.3$  lambs and  $1.1\pm 0.2$  lambs); but it enhanced the estrous onset ( $p<0.05$ ,  $39.7\pm 5.0$  h and  $59.2\pm 2.9$  h), reduced the return to oestrus ( $p<0.05$ , 20.0% and 33.3%) and increased fertility ( $p<0.05$ ,  $0.6\pm 0.2$  lambs and  $0.5\pm 0.2$  lambs) among ME+CIDRr and woME+CIDRr treatments, respectively. In postpartum estrous synchronization, the 'male effect' did not influence in the estrous response ( $p>0.05$ , 93.3% and 73.3%), the return to oestrus ( $p<0.05$ , 20.0% and 33.3%), the pregnancy rate ( $p>0.05$ , 78.6% and 54.6%), the calving rate ( $p>0.05$ , 100% and 100%) and prolificacy ( $p>0.05$ ,  $2.4\pm 0.2$  lambs and  $2.2\pm 0.3$  lambs); but it enhanced the estrous onset ( $p<0.05$ ,  $31.2\pm 3.2$  h and  $57.1\pm 3.3$  h), and increased

fertility ( $P < 0.05$ ,  $1.7 \pm 0.3$  and  $0.9 \pm 0.3$ ) among CS+ME+CIDRr and CS+CIDRr treatments, respectively. The 'male effect' did not affect the ewes's weight with continuous suckling and no differences in weight change during the postpartum evaluation too ( $p > 0.05$ ). In protocols including reused intravaginal devices, the 'male effect' enhances the estrous onset, reduces the return to estrous and increases fertility in prepubertal Pelibuey ewes were induced to estrous. In postpartum estrous synchronization, the 'male effect' enhances the estrous onset and increases fertility in Pelibuey ewes with continuous suckling.

Keywords: Reused CIDR, ram, continuous suckling, puberty, fertility.

#### 4.3.3. Introducción

La reproducción de pequeños rumiantes se realiza con hormonas exógenas que modifican los eventos fisiológicos en el ciclo sexual que simulan la acción del cuerpo lúteo (CL) después de la ovulación, para estimular la secreción de la hormona luteinizante (LH), como los progestágenos ( $P_4$ ; [Abecia et al., 2011](#)). La aplicación de dispositivos intravaginales liberadores de progesterona (CIDR®) es común para sincronizar el estro en ovejas, con duración de 12 a 14 días ([Wheaton et al., 1993](#)). En la actualidad, existen protocolos de cinco días que mejoran la eficiencia reproductiva en diferente época del año ([Jackson et al., 2014](#)), con lo cual se aprovecha la progesterona residual contenida en los dispositivos, para reutilizarlos dos o más veces ([Vilariño et al., 2013](#)) en la sincronización del estro en ovejas de pelo ([Pinna et al., 2012](#)) o en ovejas de lana con 'efecto macho' ([Ungerfeld, 2009](#)). En ovejas de pelo, el estímulo previo del carnero favorece el comportamiento reproductivo y mejora la respuesta endócrina en primas inducidas al estro ([Knights et al., 2002](#)) y en la sincronización del estro postparto en ovejas adultas con diferente modalidad de amamantamiento ([Morales-Terán et al., 2011](#); [Castillo-Maldonado et al., 2013](#)). Por tanto, el objetivo del presente estudio fue evaluar el 'efecto macho' en respuesta a la inducción del estro en ovejas prepúberes y a la sincronización del estro postparto en ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo, mediante dispositivos intravaginales reutilizados; con la hipótesis de que la progesterona residual contenida en los dispositivos intravaginales, será suficiente al reutilizarlos

para inducir y sincronizar el estro en ovejas Pelibuey estimuladas previamente con 'efecto macho'.

#### 4.3.4. Materiales y métodos

##### 4.3.4.1. Localización del área de estudio

Se realizó una inducción al estro y una sincronización del estro postparto, mediante dispositivos intravaginales liberadores de progesterona (CIDR®) reutilizados, durante octubre de 2012 a abril de 2013, en el Laboratorio de Reproducción de Ovinos y Caprinos (LaROCa) del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, estado de México, localizado a 19°29' N y 98°53' O, a una altitud de 2250 m. El clima es Cb (wo) (w) (i') g, templado subhúmedo; con lluvias en verano, precipitación y temperatura promedio anual de 636.5 mm y 15.2°C ([García, 2004](#)).

##### 4.3.4.2. Animales experimentales y manejo

En la inducción al estro, se utilizaron 33 ovejas Pelibuey prepúberes con una edad de siete meses y un peso de 34.7±4.5 kg; en la sincronización del estro, se utilizaron 30 ovejas adultas de partos múltiples con un peso de 54.1±1.3 kg. Durante el desarrollo de ambos experimentos, todas las ovejas consumieron 2.0 kg oveja<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> de una dieta integral elaborada con heno molido de avena (70%) mezclado con un concentrado comercial ([Anexo 2](#)) que contenía 15% de proteína cruda y 2.9 Mcal de energía metabolizable kg<sup>-1</sup> (30%), sales minerales y agua a libre acceso. Previo a la asignación a los tratamientos, todas las ovejas se desparasitaron, despezuñaron y se les suministró vitaminas; se mantuvieron en corrales provistos de sombra, comedero, bebedero automático y piso de tierra. El peso se registró cada semana para observar cambios durante la fase experimental postparto en las ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo.

##### 4.3.4.3. Manejo del carnero

Previo al estímulo del macho, todas las ovejas Pelibuey prepúberes y adultas postparto se mantuvieron a una distancia mínima de 100 m del corral de los carneros durante 49 d ([Walkden-Brown et al., 1993](#)), para evitar el contacto visual, auditivo y

olfativo entre ellos; y de esta manera aumentar el estímulo al momento del 'efecto macho' (EM), el cual consistió en introducir un carnero Pelibuey adulto provisto de un mandil (para evitar la cópula) dos veces al día (8:00-9:00 h y 15:00-16:00 h) durante 15 d, previo a la inserción del dispositivo intravaginal reutilizado. Se utilizaron ocho carneros Pelibuey experimentados para realizar los protocolos de sincronización del estro con dispositivos intravaginales reutilizados (CIDRr).

#### 4.3.4.4. Modalidad de amamantamiento

Durante la sincronización del estro con CIDRr, todas las ovejas Pelibuey postparto amamantaron a sus crías en forma continua hasta el destete (63 d). Esta modalidad se consideró con base en los protocolos de manejo reproductivo realizados con anterioridad en ovejas Pelibuey postparto en el mismo lugar de estudio ([Morales-Terán et al., 2011](#); [Castillo-Maldonado et al., 2013](#)).

#### 4.3.4.5. Reutilización de los dispositivos intravaginales de progesterona

En la inducción del estro de las ovejas Pelibuey prepúberes, se utilizaron dispositivos intravaginales de liberación controlada (CIDR®, 0.3 g de P<sub>4</sub>, Pfizer) usados con anterioridad en la sincronización del estro durante 9 d (sincronización con CIDR®, Estudio II de la presente investigación). En la sincronización del estro de las ovejas Pelibuey postparto, se reutilizaron los dispositivos intravaginales empleados en el protocolo de inducción al estro de las ovejas Pelibuey prepúberes, en el presente estudio. Para conservar y reutilizar los CIDR®, se lavaron con suero fisiológico después de retirarlos de la región vaginal de las ovejas, se colocaron en papel aluminio, se guardaron en bolsas vacías y se almacenaron en una caja de cartón a temperatura ambiente. En la presente investigación, a los dispositivos intravaginales reutilizados se les asignó la nomenclatura de CIDRr, para diferenciarlos de uno nuevo.

#### 4.3.4.6. Tratamientos y protocolos experimentales

Las ovejas Pelibuey prepúberes se asignaron al azar a uno de dos tratamientos: T1, n=16: ovejas estimuladas diariamente con 'efecto macho' durante 15 d, previo a la

inserción del dispositivo intravaginal reutilizado (EM+CIDRr); y T2, n=17: ovejas sincronizadas con dispositivo intravaginal reutilizado, sin el estímulo previo del ‘efecto macho’ (sEM+CIDRr; Figura 13).

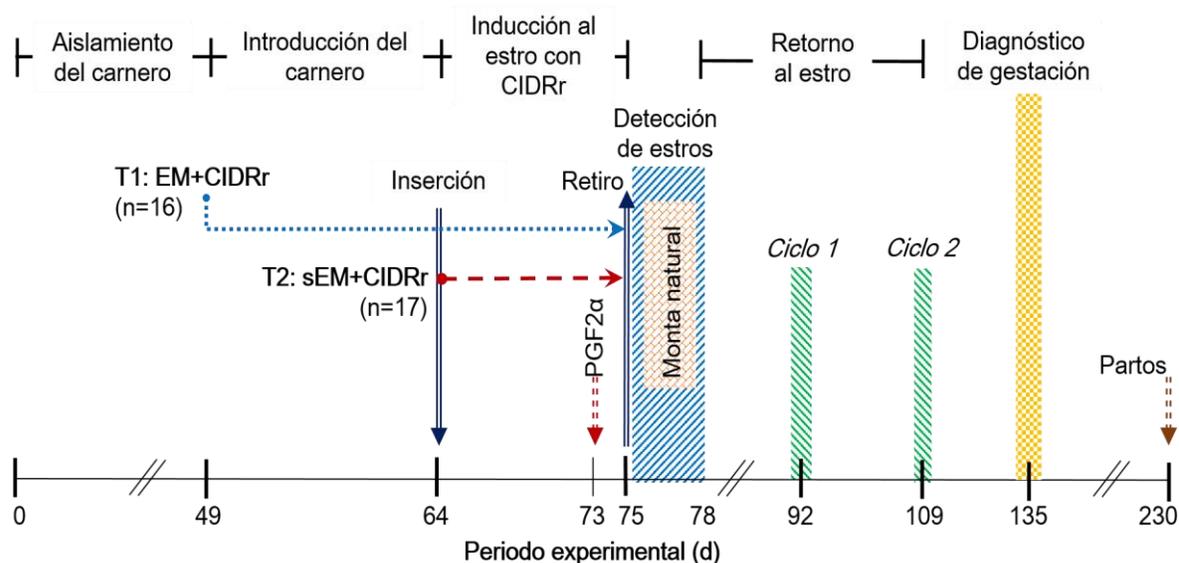


Figura 13. Protocolo de inducción al estro en ovejas Pelibuey prepúberes con ‘efecto macho’ (EM+CIDRr) y sin ‘efecto macho’ (sEM+CIDRr), previo a la inserción del dispositivo intravaginal reutilizado.

El protocolo de inducción al estro incluyó la inserción de un dispositivo intravaginal reutilizado (CIDRr) que permaneció durante 11 d y 48 h antes del retiro, se les aplicó 1 mL de prostaglandina sintética (250 mcg de cloprostenol sódico, Celosil®, MSD Animal Health; México) con la finalidad de lisar algún CL presente. Después de retirar el CIDRr, se detectó el estro mediante la introducción de un carnero provisto de un mandil, en periodos de 30 min cada 4 h durante 72 h. Las ovejas que presentaron estro, se condujeron a otro corral para inseminarlas por monta natural y se les proporcionó una segunda monta a las 12 h posteriores (Figura 13).

Las ovejas Pelibuey postparto se asignaron conforme parían a uno de dos tratamientos: T1, n=15: ovejas con amamantamiento continuo estimuladas diariamente con ‘efecto macho’ durante 15 d, previo a la inserción del dispositivo intravaginal reutilizado (AC+EM+CIDRr); y T2, n=15: ovejas con amamantamiento

continuo sincronizadas con dispositivo intravaginal reutilizado, sin el estímulo previo del ‘efecto macho’ (AC+CIDRr). A los 35 d postparto, todas las ovejas con amamantamiento continuo, se sincronizaron con dispositivos intravaginales reutilizados (CIDRr), que permanecieron durante 9 d y 48 h antes del retiro, se les aplicó 1 mL de prostaglandina sintética (250 mcg de cloprostenol sódico, Celosil®, MSD Animal Health; México) con la finalidad de lisar algún CL presente. Después de retirar el CIDRr, un carnero provisto de un mandil se introdujo al corral de las ovejas por 30 min para detectar el estro, cada 4 h durante 72 h; aquellas con estro detectado, se inseminaron por monta natural y se les proporcionó una segunda monta a las 12 h posteriores (Figura 14).

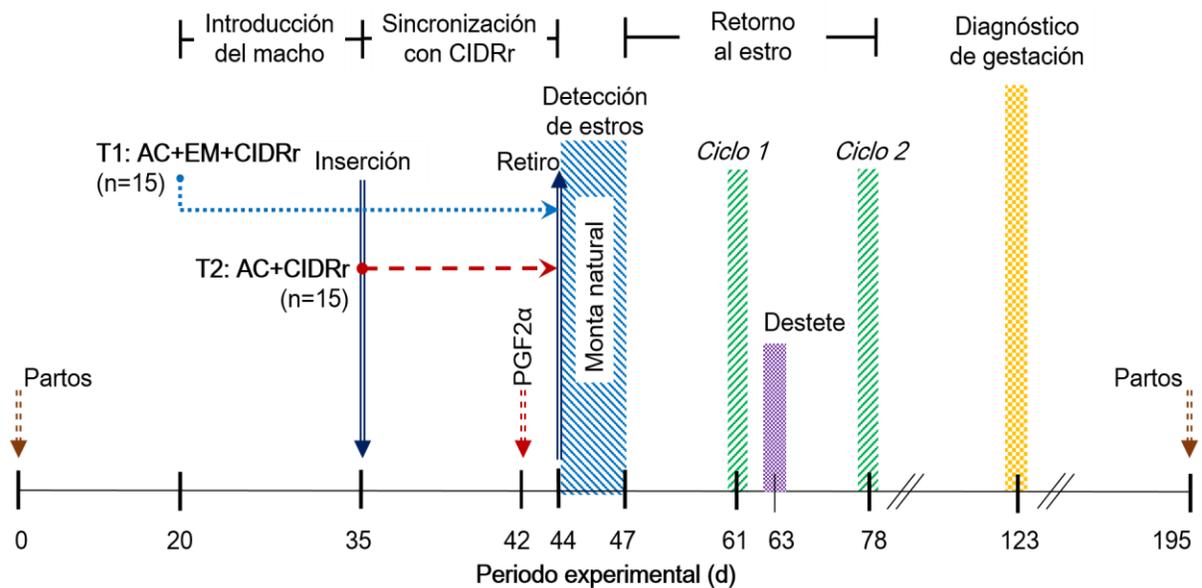


Figura 14. Protocolo de sincronización del estro en ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo, estimuladas con ‘efecto macho’ (AC+EM+CIDRr) y sin ‘efecto macho’ (AC+CIDRr), previo a la inserción del dispositivo intravaginal reutilizado.

#### 4.3.4.7. Retorno al estro

Después de 72 h de detectar el estro, se determinó el retorno al estro, pero ahora por 60 min d<sup>-1</sup> (9:00 y 16:00 h) durante 34 d, periodo considerado como la duración promedio de dos ciclos estrales normales.

#### 4.3.4.8. Diagnóstico de gestación

Se determinó mediante un transductor abdominal de 7.5 Mhz integrado a un equipo de ultrasonografía a tiempo real (SONOACE Pico) a los 45 d después del segundo ciclo del retorno al estro.

#### 4.3.4.9. Variables de estudio

- Incidencia del estro (n). Cantidad de hembras que presentaron estro en respuesta a la sincronización, expresado en porcentaje.
- Inicio del estro (h). Tiempo transcurrido desde el retiro del CIDR reutilizado, hasta que la oveja manifestó signos de estro.
- Retorno al estro (n). Cantidad de ovejas que presentaron estro después de la inseminación por monta natural, expresado en porcentaje.
- Gestación (%). Cantidad de ovejas gestantes respecto al total de hembras inseminadas que no retornaron al estro, multiplicado por 100.
- Partición (%). Cantidad de ovejas paridas respecto al total de hembras gestantes, multiplicado por 100.
- Prolificidad (n). Cantidad de crías nacidas con respecto al total de ovejas paridas de cada tratamiento.
- Fecundidad (n). Cantidad de crías nacidas con respecto al total de ovejas de cada tratamiento.
- Cambios de peso (kg). Peso corporal de las ovejas registrado cada semana durante el desarrollo del experimento.

#### 4.3.4.10. Análisis estadístico

Se utilizó el software Statistical Analysis Systems® ([SAS Institute Inc, 2012](#)) para el análisis de los datos. En ambos experimentos, se realizó un análisis de varianza para modelos lineales (PROC GLM) para prolificidad y fecundidad. Se utilizó la prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) para comparar medias entre tratamientos, en un diseño completo con tratamientos aleatorizados (DCA; [Steel et al., 1997](#)), cuyo modelo es el siguiente:

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

$i = 1, 2, 3 \dots t, \quad j = 1, 2, 3 \dots r$

Donde:

$Y_{ij}$  = Variable respuesta en el tratamiento  $i$ , repetición  $j$ .

$\mu$  = Media general.

$T_i$  = Efecto del tratamiento  $i$ .

$\xi_{ij}$  = Error aleatorio,  $\xi_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$ .

La respuesta al estro, el retorno al estro, las tasas de gestación y parición, se analizaron con un modelo de regresión logística mediante el procedimiento PROC LOGISTIC con la prueba de Wald, cuyo modelo es el siguiente:

$$P(Y/X) = \frac{e^{\beta_0 + \beta_1 X}}{1 + e^{\beta_0 + \beta_1 X}}$$

Donde:

$P(Y/X)$ : Probabilidad de que una oveja presentó estro, retornó al estro, se gestó, parió, dado el tratamiento  $X$ .

$e$ : 2.71

$\beta_0$  y  $\beta_1$ : Coeficientes del modelo

$Y$ : Respuesta (si o no)

$X$ : Tratamiento

En los datos del inicio del estro, se realizó la prueba de [Shapiro y Wilk \(1965\)](#) para observar normalidad univariada y justificar el análisis con el método de curvas de supervivencia de Kaplan Meier y la Regresión de Cox ([Salinas, 2008](#)); y se usó la prueba de Log-Rank, mediante el procedimiento LIFETEST, con el siguiente modelo:

$$H(t) = H(t)_0 * e^{(X_1 * \beta_1 + X_2 * \beta_2 + X_k * \beta_k)}$$

Donde:

$H(t)$ : función de riesgo (hazard ratio) de que la cordera inicie el estro al tiempo  $t$ .

$H(t)_0$ : función de riesgo mínima al tiempo  $t$ .

$X_k$ : variable predictora  $k$

$\beta_k$ : constante asociada a la variable  $k$ .

El cambio de peso de las ovejas Pelibuey postparto con amamantamiento continuo sincronizadas con CIDRr, se comparó con un análisis de varianza para modelos lineales (PROC GLM), con el análisis de medidas repetidas en el tiempo. Se utilizó la prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ), para la comparación de medias por efecto de tratamientos y para la interacción *tratamiento\*periodo*, en un DCA, con el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + d_{j(i)} + P_k + (TP)_{ik} + E_{ijk}$$

$i = 1 \dots t, j = 1 \dots r, k = 1 \dots n$

Donde:

$Y_{ijk}$  = Variable respuesta en la  $k$ -ésima observación

$\mu$  = Media general

$T_i$  = Efecto del  $i$ -ésimo tratamiento

$d_{ji}$  = Error aleatorio asociado dentro con la  $j$ -ésima oveja dentro del  $i$ -ésimo tratamiento

$P_k$  = Efecto del  $k$ -ésimo periodo

$(TP)_{ik}$  = Efecto de la interacción *tratamiento\*periodo*

$E_{ijk}$  = Error aleatorio asociado con la  $k$ -ésima medida repetida dentro de la  $j$ -ésima oveja

#### 4.3.5. Resultados

##### 4.3.5.1. Inducción al estro en ovejas Pelibuey prepúberes

###### 4.3.5.1.1. Respuesta a la inducción del estro

El 'efecto macho' no influyó ( $p>0.05$ ) en el porcentaje de estro en las ovejas Pelibuey prepúberes (EM+CIDRr: 93.8% y sEM+CIDRr: 70.6%); pero redujo ( $p<0.05$ ) el inicio del estro, en respuesta a la inducción con los dispositivos intravaginales reutilizados (EM+CIDRr:  $39.7 \pm 5.0$  h y sEM+CIDRr:  $59.2 \pm 2.9$  h). El 'efecto macho' disminuyó ( $p<0.05$ ) la proporción de ovejas Pelibuey prepúberes que retornaron al estro (EM+CIDRr: 20.0% y sEM+CIDRr: 33.3%), y no afectó ( $p>0.05$ ; [Anexo 19](#)) la duración del retorno al estro (EM+CIDRr:  $14.9 \pm 0.1$  d y sEM+CIDRr:  $11.0 \pm 0.9$  d); por lo cual, todas las ovejas Pelibuey prepúberes retornaron al estro en un periodo menor al de un ciclo estral normal.

#### 4.3.5.1.2. Tasa de gestación y parición

El 'efecto macho' no influyó ( $p>0.05$ ; [Anexo 20](#)) en la tasa de gestación (EM+CIDRr: 80.0% y sEM+CIDRr: 66.7%) y en la tasa de parición (EM+CIDRr: 100.0% y sEM+CIDRr: 100.0%) de las ovejas Pelibuey prepúberes, en respuesta a la inducción del estro con dispositivos intravaginales reutilizados.

#### 4.3.5.1.3. Prolificidad y fecundidad

Las ovejas Pelibuey prepúberes de ambos tratamientos, presentaron la misma cantidad de crías nacidas. El estímulo del 'efecto macho' no influyó ( $p>0.05$ ) en la prolificidad (EM+CIDRr:  $1.3\pm 0.3$  crías y sEM+CIDRr:  $1.1\pm 0.2$  crías), pero aumentó ( $p<0.05$ ; [Anexo 21](#)) la fecundidad en las ovejas Pelibuey prepúberes (EM+CIDRr:  $0.6\pm 0.2$  crías y sEM+CIDRr:  $0.5\pm 0.2$  crías), en respuesta al protocolo de inducción al estro con dispositivos intravaginales reutilizados.

#### 4.3.5.2. Sincronización del estro en ovejas Pelibuey postparto

##### 4.3.5.2.1. Respuesta a la sincronización del estro

El 'efecto macho' no influyó ( $p>0.05$ ) en el porcentaje de estro, en respuesta a la sincronización con dispositivo intravaginal reutilizado (AC+EM+CIDRr: 93.3% y AC+CIDRr: 73.3%), pero redujo ( $p<0.05$ ) el inicio del estro (AC+EM+CIDRr:  $31.2\pm 3.2$  h y AC+CIDRr:  $57.1\pm 3.3$  h). El estímulo del 'efecto macho' no afectó ( $p>0.05$ ) el porcentaje del retorno al estro (AC+EM+CIDRr: 21.4% y AC+CIDRr: 45.5%). Todas las ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo, retornaron al estro en un periodo menor al de un ciclo estral normal ( $p>0.05$ ; AC+EM+CIDRr:  $13.8\pm 0.1$  d y AC+CIDRr:  $14.0\pm 1.0$  d; [Anexo 22](#)).

##### 4.3.5.2.2. Tasa de gestación y parición

El 'efecto macho' no influyó ( $p>0.05$ ) en la tasa de gestación (AC+EM+CIDRr: 78.6% y AC+CIDRr: 54.6%) de las ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo. Se obtuvo el 100% ( $p>0.05$ ; [Anexo 23](#)) en los partos de las ovejas Pelibuey en ambos tratamientos.

#### 4.3.5.2.3. Prolificidad y fecundidad

El 'efecto macho' no influyó ( $p>0.05$ ) en la prolificidad de las ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo (AC+EM+CIDRr:  $2.4\pm 0.2$  crías y AC+CIDRr:  $2.2\pm 0.3$  crías), pero aumentó ( $p<0.05$ ) la fecundidad (AC+EM+CIDRr:  $1.7\pm 0.3$  crías y AC+CIDRr:  $0.9\pm 0.3$  crías; Anexo 24) en respuesta a la sincronización del estro con dispositivos reutilizados.

#### 4.3.5.2.4. Cambio de peso

El cambio de peso de las ovejas Pelibuey postparto con amamantamiento continuo, no se afectó ( $p>0.05$ ) por la presencia del macho (21 d a 35 d postparto), previo a la inserción del dispositivo intravaginal reutilizado. El peso al parto fue 54.9 kg para las ovejas con AC+EM+CIDRr y 53.3 kg para aquellas con AC+CIDRr. El peso al destete (63 d) fue 55.6 kg para las ovejas con AC+EM+CIDRr y 53.8 kg para aquellas con AC+CIDRr. Aunque la sincronización del estro postparto se realizó en ovejas con la modalidad de amamantamiento continuo, el peso corporal no se afectó ( $p>0.05$ ) para cada periodo de registro, entre tratamientos (Figura 15).

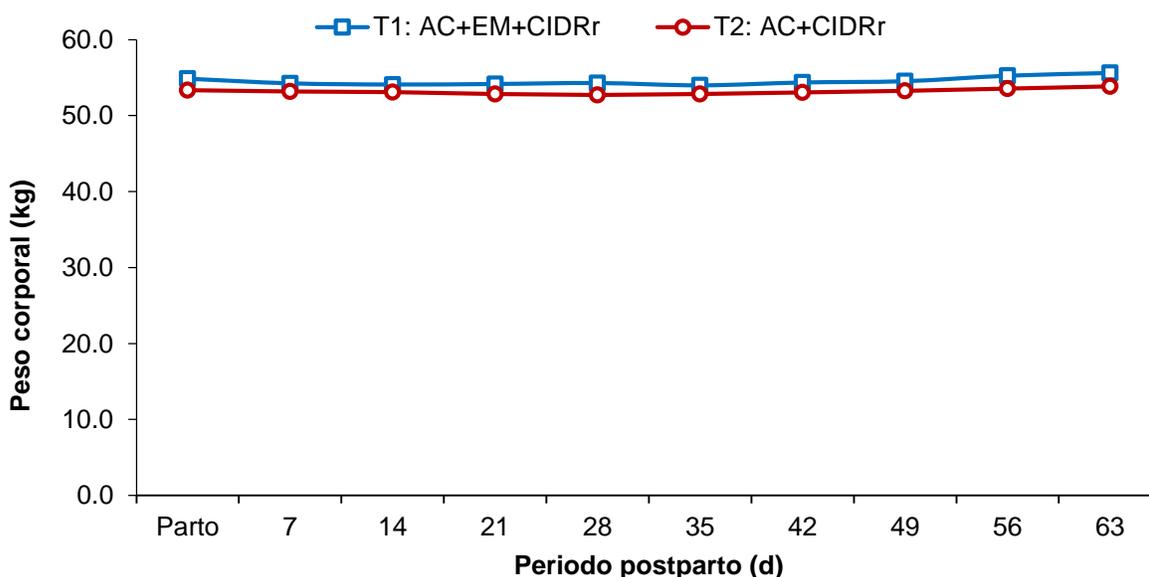


Figura 15. Cambio de peso en ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo con 'efecto macho' (AC+EM+CIDRr) y sin 'efecto macho' (AC+CIDRr), previo a la inserción del dispositivo intravaginal reutilizado.

#### 4.3.6. Discusión

##### Respuesta al estro

En la presente investigación, la similitud en el porcentaje de respuesta al estro entre tratamientos obtenida en las ovejas Pelibuey prepúberes inducidas al estro y en aquellas sincronizadas al estro postparto, coincide con lo publicado por [Castillo-Maldonado \*et al.\* \(2013\)](#), quienes obtuvieron 100% de respuesta al estro en ovejas Pelibuey. [Pinna \*et al.\* \(2012\)](#) reportaron 92.9%, 92.9% y 100.00% de estros en ovejas Santa Inés sincronizadas con CIDR® nuevo, utilizado y reutilizado, respectivamente. Contrario con lo publicado por [Ungerfeld \*et al.\* \(2013\)](#), quienes obtuvieron mayor respuesta al estro con CIDR® nuevo (56.7%) comparado con CIDR® reutilizado (26.7%) y con CIDR® reutilizado y esterilizado por autoclave (15.6%). La eficacia de los dispositivos intravaginales reutilizados puede variar por el tiempo de uso del progestágeno ([Pinna \*et al.\*, 2012](#)) o por la raza de ovejas ([Husein y Ababneh, 2008](#)). En un estudio en ovejas Corriedale, [Ungerfeld \(2009\)](#) obtuvo un bajo porcentaje de respuesta al estro, al sincronizar con CIDR® reutilizados por 12 d (39.4%) y 18 d (30.2%). Estos resultados difieren con el porcentaje de estro obtenido en la inducción y sincronización del estro postparto con dispositivos reutilizados en el presente estudio, lo cual indica que el estímulo del 'efecto macho' favorece la respuesta al estro en la oveja Pelibuey ([Morales-Terán \*et al.\*, 2011](#); [Castillo-Maldonado \*et al.\*, 2013](#)). No obstante, la eficacia del CIDR® reutilizado para promover el estro en ovejas después de un primer uso, es menor, comparada con la de uno nuevo, aún con el estímulo del 'efecto macho' ([Ungerfeld \*et al.\*, 2013](#)). Es posible relacionar las concentraciones de progesterona (P<sub>4</sub>) durante los tratamientos con CIDR® con el crecimiento folicular ovárico y la fertilidad en las ovejas ([Vilariño \*et al.\*, 2013](#)); y las cantidades de P<sub>4</sub> exógena inducen cambios en la respuesta a la retroacción positiva del estradiol (E<sub>2</sub>) en la secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), por el aumento en el pico de la GnRH ([Caraty y Skinner, 1999](#)).

##### Retorno al estro

En el presente estudio, la tasa de retorno al estro de las ovejas Pelibuey prepúberes inducidas al estro y en aquellas ovejas postparto sincronizadas con dispositivos

reutilizados, difieren con lo publicado por [Ungerfeld \(2009\)](#) y con [Pinna et al. \(2012\)](#). En principio, la modalidad de reutilizar los CIDR® fue en vacas, luego se adaptó para protocolos cortos de sincronización en ovejas, debido a la concentración de P<sub>4</sub> de liberación prolongada, lo cual hizo posible usarlos por dos o hasta tres veces ([Pinna et al., 2012](#)). Las ovejas Pelibuey sincronizadas con dispositivos reutilizados, en el presente estudio, no mostraron efecto negativo por el amamantamiento en el reinicio de la actividad ovárica postparto, lo cual difiere con los resultados de [Morales-Terán et al. \(2011\)](#). Además, la concentración sérica de P<sub>4</sub> es similar en los CIDR® de primer, segundo y tercer uso ([Vilariño et al., 2013](#)). Por tanto, quizás los dispositivos reutilizados en el presente estudio, tuvieron un efecto parecido al de uno nuevo, debido al estímulo con 'efecto macho' previo a su inserción ([Ungerfeld et al., 1999](#)). Las ovejas sin P<sub>4</sub> adicional durante un ciclo estral artificial, exhiben un pico de la hormona luteinizante (LH), pero no el comportamiento estral, después del aumento de E<sub>2</sub> ([Fabre-Nys y Martin, 1991](#)) y la ovulación silenciosa se atribuye a la ausencia de una fase lútea previa. Lo anterior sugiere que, la concentración remanente de P<sub>4</sub> en los dispositivos reutilizados aplicados a las ovejas Pelibuey estimuladas previamente con 'efecto macho', en el presente estudio, se destinó para estimular la actividad folicular por la presencia del carnero ([Ungerfeld y Rubianes, 1999](#)) y se reflejó en la cantidad de ovejas que respondieron y no retornaron al estro.

#### Inicio de estro

[Güngör et al. \(2009\)](#) reportaron  $40.1 \pm 1.4$  h para el inicio del estro y [Vilariño et al. \(2013\)](#) registraron  $34.7 \pm 11.1$  h para el inicio del estro en ovejas con CIDR® de segundo uso (previo uso de seis días) y  $37.2 \pm 6.8$  h en aquellas con CIDR® de tercer uso (previo uso doble de seis días). Estos resultados difieren con el inicio del estro obtenido en la inducción al estro y en la sincronización postparto en la presente investigación. En el presente estudio, el inicio del estro de las ovejas postparto con amamantamiento continuo sin 'efecto macho', coincide con las 52 h reportadas en ovejas Santa Inés sincronizadas con CIDR® nuevo, utilizado y reutilizado ([Pinna et al., 2012](#)). Lo cual se atribuye al estímulo ejercido por el carnero en contacto con las ovejas Pelibuey, previo a la inserción de los dispositivos reutilizados, debido a que la

presencia continua del carnero, acelera la aparición del estro y reduce el intervalo entre la remoción del progestágeno y la ovulación en ovejas (Romano *et al.*, 2001). Por tanto, las ovejas Pelibuey estimuladas con el carnero iniciaron el estro más pronto, porque el ‘efecto macho’ incrementa la secreción de la LH, lo cual promueve un mayor desarrollo folicular y la producción de E<sub>2</sub> (Evans *et al.*, 2004). En los protocolos de inducción y sincronización con dispositivos reutilizados en el presente estudio, la permanencia del progestágeno fue menor que 14 d, para evitar la ovulación de folículos maduros y aprovechar la liberación de P<sub>4</sub> residual del mismo y probablemente, fue suficiente para utilizarlo (Vilariño *et al.*, 2013), lo cual se reflejó en la presentación del estro a las 48 h posteriores a su retiro (Abecia *et al.*, 2012).

#### Tasa de gestación y parición

Pinna *et al.* (2012) reportaron tasa de gestación similares en ovejas sincronizadas con CIDR® nuevos, utilizados y reutilizados. Güngör *et al.* (2009) obtuvieron 60% de gestación en ovejas sincronizadas con CIDR® durante 12 d (previo uso durante 12 d). Vilariño *et al.* (2013) obtuvieron 71.4% de gestación en ovejas sincronizadas con CIDR® durante seis días (utilizados en dos ocasiones anteriores, durante seis días en cada ocasión). En estos estudios, no se consideró el efecto del amamantamiento o la presencia del carnero al sincronizar el estro; por lo tanto, la tasa de gestación difiere con la obtenida en la inducción y la sincronización con dispositivos reutilizados en el presente estudio. Existen factores que influyen en la respuesta a la sincronización del estro en ovejas con ‘efecto macho’ y el número de ocasiones que se utiliza el dispositivo intravaginal nuevo o reutilizado, quizás sea el de mayor consideración, debido al contenido de P<sub>4</sub> residual que se relaciona con su eficacia y se observa en la reducción de la tasa de gestación. Ungerfeld (2009) reportó una disminución en la tasa de gestación en ovejas estimuladas con ‘efecto macho’ y sincronizadas con CIDR® reutilizados durante 18 d. Castillo-Maldonado *et al.* (2013) mencionaron que el ‘efecto macho’ no afectó la tasa de gestación en ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo, en respuesta a la sincronización del estro con CIDR® nuevos a los 35 d postparto. La ventaja que tiene el CIDR®, es que después de su uso, puede liberar concentraciones de P<sub>4</sub> capaces de bloquear la LH para mantener

la cantidad de esteroides que aseguren la calidad de los óvulos para su fecundación (Pinna *et al.*, 2012). En el presente estudio, todas las ovejas Pelibuey se inseminaron por monta natural a estro detectado y se repitió a las 12 h posteriores, así para obtener altos porcentajes de gestación, es mejor inseminar dos veces a las ovejas después de detectar el estro (Salamon y Maxwell, 2000).

#### Prolificidad

La prolificidad en ovejas Pelibuey se considera baja y se reporta para los sistemas extensivo, semi-intensivo e intensivo, 1.2, 1.3 y 1.4 crías, respectivamente (Herrera *et al.*, 2010). Estos valores coinciden con las 1.3 crías en ovejas sincronizadas con CIDR® durante seis días (previamente utilizados dos veces, por seis días en cada ocasión) y con inseminación artificial (IA; Vilariño *et al.*, 2013) y a la prolificidad de las ovejas Pelibuey prepúberes inducidas al estro estimuladas con 'efecto macho', en el presente estudio; pero difieren con las  $1.8 \pm 0.2$  crías y  $1.7 \pm 0.2$  crías obtenidas con IA (Castillo-Maldonado *et al.*, 2013), y con las 2.1 crías (Avendaño-Reyes *et al.*, 2007), que a su vez se asemejan a la prolificidad de las ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo estimuladas con 'efecto macho' en el presente estudio.

#### Fecundidad

Se reportaron valores de fecundidad de 1.5 crías (Castillo-Maldonado *et al.*, 2013) y 1.3 crías (Avendaño-Reyes *et al.*, 2007), los cuales superan las 0.9 crías reportadas por Vilariño *et al.* (2013). Estos resultados difieren con la prolificidad obtenida en la inducción y sincronización del estro en el presente estudio. La diferencia en la producción de corderos con respecto a otros estudios, posiblemente se relacione con el porcentaje de ovejas que presentaron estro o con el índice de fertilidad en la raza Pelibuey (Perón, 2010), o por la doble inseminación por monta natural después de detectar el estro (Salamon y Maxwell, 2000).

#### Cambio de peso

Morales-Terán *et al.* (2011) reportaron que la presencia o ausencia del carnero, no influyó en el cambio de peso de las ovejas con crías lactantes. En la presente

investigación, durante el desarrollo del experimento, las ovejas Pelibuey postparto con amamantamiento continuo, mantuvieron su peso corporal y no observaron cambios por la presencia continua de los corderos durante el amamantamiento, ni por la introducción del macho. Así, el nivel nutricional es indispensable para aportar la cantidad de leche durante el postparto y cubrir las funciones reproductivas demandantes de energía. Por tanto, la movilización de reservas corporales se refleja en las pérdidas de peso por el amamantamiento (Morales-Terán *et al.*, 2011). Sin embargo, los efectos que influyen en la disminución del peso, como el estrés por lactancia, no se apreció en las ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo durante el periodo postparto en la presente investigación, lo cual coincide con lo reportado por Castillo-Maldonado *et al.* (2013).

#### 4.3.7. Conclusiones

El 'efecto macho' no afecta la respuesta al estro, la tasa de gestación y de parición, y la prolificidad; pero adelanta el inicio del estro, reduce la tasa de retorno al estro y aumenta la fecundidad en ovejas Pelibuey prepúberes inducidas al estro con dispositivos intravaginales liberadores de progesterona reutilizados.

El 'efecto macho' adelanta el inicio del estro y aumenta la fecundidad en ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo, en respuesta a la sincronización del estro postparto con dispositivos intravaginales liberadores de progesterona reutilizados.

El 'efecto macho' no afecta el peso de las ovejas con amamantamiento continuo y tampoco influye en el cambio de peso durante el periodo de evaluación postparto.

Los progestágenos en la presentación de dispositivos intravaginales, se reutilizan e incluyen en los protocolos de inducción y sincronización del estro en ovejas Pelibuey estimuladas con 'efecto macho'.

#### **4.4. NUTRICIÓN FOCALIZADA DURANTE LA SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO EN OVEJAS PELIBUEY CON DIFERENTE ESTADO FISIOLÓGICO Y CONDICIÓN CORPORAL**

##### 4.4.1. Resumen

Con la finalidad de evaluar la nutrición focalizada (NF) y su respuesta en la actividad ovárica (número y diámetro de folículos), la ovulación y el inicio del estro, se realizaron dos experimentos de sincronización con progestágenos (CIDR®) en ovejas Pelibuey con diferente condición corporal (CC) y estado fisiológico. En el primer experimento, se utilizaron 52 ovejas postparto con amamantamiento continuo (AC), y en el segundo, 69 ovejas no gestantes y sin crías (vacías, VA). En ambos experimentos, las ovejas se asignaron al azar a uno de cuatro tratamientos, derivados de un arreglo de dos factores (A: NF y B: CC), cada uno a dos niveles (a1: sin “s” y a2: con “c”; b1: baja “b” y b2: alta “a”), en las ovejas postparto: T1, n=14: ovejas con amamantamiento continuo, sin nutrición focalizada y condición corporal baja (ACsNFCCb); T2, n=13: ovejas con amamantamiento continuo, sin nutrición focalizada y condición corporal alta (ACsNFCCa); T3, n=12: ovejas con amamantamiento continuo, con nutrición focalizada y condición corporal baja (ACcNFCCb); T4, n=13: ovejas con amamantamiento continuo, con nutrición focalizada y condición corporal alta (ACcNFCCa); en ovejas vacías : T1, n=15: ovejas vacías, sin nutrición focalizada y condición corporal baja (VAsNFCCb); T2, n=18: ovejas vacías, sin nutrición focalizada y condición corporal alta (VAsNFCCa); T3, n=18: ovejas vacías, con nutrición focalizada y condición corporal baja (VAcNFCCb); y T4, n=18: ovejas vacías, con nutrición focalizada y condición corporal alta (VAcNFCCa). A la dieta base se le adicionó 1.5 kg de un alimento que contenía 2.6 Mcal de energía metabolizable y 16% de proteína cruda, para evaluar el efecto de la nutrición focalizada durante la sincronización del estro. Se colectaron muestras sanguíneas de las ovejas para analizar la concentración de progesterona y determinar el porcentaje de ovulación. Se evaluó la actividad ovárica (n=3 por tratamiento), mediante ultrasonografía a tiempo real, para cuantificar y clasificar la población folicular de acuerdo con su diámetro (2 a 3 mm, 4 a 5 mm y mayores de 6 mm). Se registró el peso corporal, la respuesta y el inicio del estro. La nutrición

focalizada no aumentó ( $p>0.05$ ) la cantidad de folículos ováricos de 2 a 3 mm y de 4 a 5 mm de diámetro, en las ovejas con condición corporal alta o baja. No se encontraron diferencias ( $p>0.05$ ) en la cantidad de folículos ováricos mayores de 6 mm de diámetro en ovejas sin nutrición focalizada con condición corporal alta o baja, y esta respuesta fue similar ( $p>0.05$ ) en las ovejas con nutrición focalizada y condición corporal baja. Estos efectos se observaron en las ovejas con amamantamiento continuo y en las ovejas vacías. La mayor cantidad de folículos superiores a los 6 mm de diámetro se obtuvo en las ovejas con nutrición focalizada y condición corporal alta, con amamantamiento continuo ( $p<0.05$ ; ACcNFCCa:  $1.8\pm 0.11$ ) y en las vacías ( $p<0.05$ ; VAcNFCCa:  $2.2\pm 0.2$ ). La nutrición focalizada no influyó ( $p>0.05$ ) en la respuesta al estro, el inicio del estro y el porcentaje de ovulación en ovejas con condición corporal alta o baja, en ovejas con amamantamiento continuo o en las vacías. Se encontraron diferencias ( $p<0.05$ ) entre tratamientos y por la interacción *tratamiento\*periodo*, en el peso corporal de las ovejas con amamantamiento continuo y en el de las ovejas vacías. La nutrición focalizada aumenta la cantidad de folículos mayores de 6 mm de diámetro en ovejas con condición corporal alta, pero no influye en la respuesta al estro, el inicio del estro y el porcentaje de ovulación en las ovejas con condición corporal alta o baja, con amamantamiento continuo o en las vacías.

Palabras clave: Suplementación, amamantamiento, actividad ovárica, progesterona, ultrasonografía.

#### 4.4.2. Abstract

In order to evaluate the focused nutrition (FN) on ovarian activity (number and diameter of follicles), ovulation and oestrus response, two synchronizations with progestogen (CIDR®) in Pelibuey ewes with different body condition (BC) and physiological state were performed. In first experiment, 52 postpartum ewes with continuous suckling (CS) were studied; in second, 69 nonpregnant and without offspring ewes (empty, E) were studied. In both experiments, ewes were randomized to one of four treatments derived from an arrangement of two factors (A: FN and B: BC), each on two levels (a1: without "wo" and a2: with "w"; b1: low "L" and b2: high

"H"), in postpartum ewes: T1, n=14: ewes with continuous suckling, without focused nutrition and low body condition (CSwoFNLBC); T2, n=13: ewes with continuous suckling, without focused nutrition and high body condition (CSwoFNHBC); T3, n=12: ewes with continuous suckling, with focused nutrition, low body condition (CSwFNLBC); T4, n=13: ewes with continuous suckling, with focused nutrition, high body condition (CSwFNHBC); in empty ewes: T1, n=15: empty ewes, focused nutrition and low body condition (EwoFNLBCC); T2, n=18: empty ewes, focused nutrition and high body condition (EwoFNHBC); T3, n=18: empty ewes, with focused nutrition, low body condition (EwFNLBC); and T4, n=18: empty ewes, with focused nutrition, high body condition (EwFNHBC). The basal diet was added 1.5 kg of a feed containing 2.6 Mcal of metabolizable energy and 16% crude protein for to evaluate focused nutrition during estrous synchronization. Ewe blood samples were collected to analyze the progesterone concentration and determine the percentage of ovulation. Ovarian activity (n=3 per treatment) were evaluated by ultrasonography in real time, to quantify and classify the population according to follicular diameter (2 to 3 mm, 4 to 5 mm and over 6 mm). Body weight, estrous response and the estrous onset were recorded. The focused nutrition did not increased the number of ovarian follicles of 2 to 3 mm and 4 to 5 mm in diameter ( $p>0.05$ ), in ewes with high or low body condition. No differences in the number of ovarian follicles greater than 6 mm in diameter in ewes without focused nutrition and with high or low body condition ( $p>0.05$ ), and this response was similar in ewes with focused nutrition and low body condition ( $p>0.05$ ). These effects were observed in empty ewes or ewes with continuous suckling. Most ovarian follicles greater than 6 mm in diameter were obtained in ewes with focused nutrition and high body condition and with continuous suckling ( $p<0.05$ ; CSwFNHBC:  $1.8\pm 0.11$ ) and empty ewes ( $p<0.05$ ; EwFNHBC:  $2.2\pm 0.2$ ). The focused nutrition did not affect on estrous response, estrous onset and ovulation rate in ewes with high or low body condition and with continuous suckling or in empty ewes ( $p>0.05$ ). Differences for *treatment\*period* effect in ewes's weight with continuous suckling or in empty ewes were found ( $p<0.05$ ). The focused nutrition increases the number of follicles greater than 6 mm in diameter in ewes with high body condition, but does not

influence the estrous response, estrous onset and ovulation rate in ewes with high or low body condition, in continuous suckling or in empty ewes.

Keywords: Supplementation, continuous suckling, ovarian activity, progesterone, ultrasonography.

#### 4.4.3. Introducción

Es importante conocer el efecto que producen los periodos cortos de alimentación posterior a la alimentación restringida o balanceada en la reproducción durante la época reproductiva y el anestro estacional, para generar alternativas de manejo que mejoren los índices reproductivos en un sistema de producción ovino (Rodríguez-Castillo *et al.*, 2004). Por lo tanto, los procesos fisiológicos de la reproducción se controlan con la nutrición durante el desarrollo folicular, la tasa de ovulación y la prolificidad; en particular en los sistemas de producción extensivos (Martin *et al.*, 2004).

Las ovejas modifican su eficiencia reproductiva en función al contenido nutricional de la dieta y su respuesta se observa en el número de óvulos que producen en cada ciclo ovulatorio. Este fenómeno consiste en cubrir los requerimientos nutricionales para que los animales ganen peso antes del apareamiento, el cual es una técnica antigua usada en la ganadería denominada “flushing” (Scaramuzzi *et al.*, 2006). No obstante, la eficiencia reproductiva de las ovejas, se afecta por condiciones ambientales o factores externos que influyen en los procesos fisiológicos y regulan la actividad ovárica en respuesta a la sincronización del estro. Por ejemplo, las ovejas amamantando ejercen ciclos estrales normales asociados con la actividad ovárica y la ovulación (Hashem *et al.*, 2011). Sin embargo, estrategias de manejo reproductivo como el control del amamantamiento, la inclusión de nutrientes en la dieta y la presencia de los carneros, favorecen la eficiencia reproductiva de un rebaño, como alternativas en las estrategias de manejo reproductivo (Martin, 2009).

En la actualidad, ofrecer una alimentación estratégica, se refiere a los periodos cortos de suplementación de 5 a 7 días, durante los días 9 al 13 del ciclo estral, con

raciones alimenticias con alto contenido proteínico y energético, para cambiar el estado metabólico y nutricional del animal e incrementar su potencial ovárico (Scaramuzzi y Martin, 2008; Viñoles *et al.*, 2009a, b; Somchit-Assavacheep *et al.*, 2011; Scaramuzzi *et al.*, 2013). Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar la actividad ovárica y la ovulación en respuesta a la nutrición focalizada durante la sincronización del estro en ovejas Pelibuey con condición corporal alta y baja.

#### 4.4.4. Materiales y métodos

##### 4.4.4.1. Localización del área de estudio

Se realizaron dos experimentos durante abril a octubre de 2013, con ovejas Pelibuey adultas, en el Laboratorio de Reproducción de Ovinos y Caprinos (LaROCa) del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, estado de México, localizado a 19°29' N y 98°53' O, a una altitud de 2250 m. El clima es Cb (wo) (w) (i') g, templado subhúmedo con lluvias en verano, precipitación y temperatura promedio anual de 636.5 mm y 15.2°C (García, 2004).

##### 4.4.4.2. Animales experimentales y manejo

Se utilizaron 121 ovejas Pelibuey adultas con un peso de  $49.6 \pm 10.3$  kg. En el primer experimento, 52 ovejas de 35 d postparto con amamantamiento continuo (AC), y en el segundo experimento, 69 ovejas sin crías y no gestantes, las cuales se denominaron vacías (VA). En ambos experimentos, todas las ovejas se asignaron conforme a un diseño completo con tratamientos aleatorizados, con un arreglo factorial 2\*2 (Cuadro 12).

La combinación entre los niveles de ambos factores, A: sin NF y con NF, B: condición corporal alta y baja, en la escala de 1 a 5 (Russel *et al.*, 1969); se designaron en las ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo (AC) y en las ovejas vacías (VA), lo cual generó cuatro tratamientos experimentales (Cuadro 13).

Cuadro 12. Experimento factorial en ovejas Pelibuey adultas con nutrición focalizada y condición corporal a dos niveles cada uno.

Factor		B: Condición corporal (CC)	
A: Nutrición focalizada (NF)	Nivel	b <sub>1</sub> : baja= b	b <sub>2</sub> : alta= a
	a <sub>1</sub> : sin= s	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> T1: sNFCCb	a <sub>1</sub> b <sub>2</sub> T2: sNFCCa
	a <sub>2</sub> : con= c	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub> T3: cNFCCb	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub> T4: cNFCCa

Cuadro 13. Tratamientos experimentales en ovejas Pelibuey adultas.

Tratamientos	Nutrición focalizada (NF)	Condición corporal (CC)	Estado fisiológico de la oveja	
			Amamantamiento continuo (AC)	Vacías (VA)
T1 (n=14)	sin	baja	ACsNFCCb	VAsNFCCb
T2 (n=13)	sin	alta	ACsNFCCa	VAsNFCCa
T3 (n=12)	con	baja	ACsNFCCb	VAcNFCCb
T4 (n=13)	con	alta	ACsNFCCa	VAcNFCCa

Previo a la asignación a los tratamientos, todas las ovejas se desparasitaron, despezuñaron y se les suministró vitaminas; se mantuvieron en corrales provistos de sombra, comedero, bebedero automático y piso de tierra. Durante el desarrollo del experimento, las ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo, se alojaron junto con sus crías en los mismos corrales, según tratamientos. El peso se registró cada semana para observar cambios durante la fase experimental.

#### 4.4.4.3. Nutrición focalizada

Las ovejas Pelibuey recibieron una dieta base y las ovejas con amamantamiento continuo (ACcNFCCb, ACcNFCCa) y las vacías (VAcNFCCb, VcNFCCa), se complementaron con 1.5 kg oveja<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> de una ración alimenticia, durante la permanencia del dispositivo intravaginal (CIDR®) para sincronizar el estro. El alimento adicional contenía 2.6 Mcal de energía metabolizable, 16% de proteína cruda, 88.5% de MS, 11.8% de fibra cruda, y 6.7% de cenizas. Su composición era a base de heno de avena (40%), sorgo molido (16%), maíz molido (16%), pasta de

soya (8%), salvado de trigo (6%), melaza (6%), gluten (4%), ortofosfato (1%), CaCO<sub>3</sub> (1%), vitasal (1%), sal común (0.5%) y aceite vegetal (0.5%).

#### 4.4.4.4. Tratamientos y protocolo experimental

A todas las ovejas se les sincronizó el estro mediante la inserción de un dispositivo intravaginal (CIDR®, 0.3 g de P<sub>4</sub>; Pfizer) que permaneció durante nueve días y 48 h antes del retiro, se les aplicó 1 mL de prostaglandina sintética (250 mcg de cloprostenol sódico, Celosil®, MSD Animal Health; México) para lisar algún cuerpo lúteo presente. Después de retirar el CIDR®, todas las ovejas se expusieron a un carnero provisto de un mandil para detectar el estro, en periodos de 30 min cada cuatro horas durante 120 h. Aquella oveja que respondió al estro, se alojó en un corral diferente y se le registró el inicio del estro. Todas las ovejas en estro se identificaron para realizar posteriormente, el muestreo sanguíneo y la ultrasonografía.

#### 4.4.4.5. Muestras sanguíneas

Con la finalidad de determinar la ovulación en respuesta al protocolo experimental, a todas las ovejas se les tomó una muestra de sangre vía punción en la vena yugular en diferentes periodos: 1) A las 12 h antes del retiro del CIDR®, 2) Después de la presentación del estro, 3) A los 9 d de retirar el CIDR®, y 4) A los 11 d de retirar el CIDR®. A todas las muestras se les separó el plasma por centrifugación durante 15 min a 600 g. Después se almacenaron en congelamiento para determinar la concentración de los niveles de P<sub>4</sub> por radioinmunoanálisis. Se consideró que una oveja ovuló cuando dos muestras consecutivas tuvieron una concentración de 0.5 ng mL<sup>-1</sup>, o se observó >1 ng mL<sup>-1</sup> de P<sub>4</sub> en una sola muestra.

#### 4.4.4.6. Evaluación del desarrollo folicular ovárico

Se seleccionó al azar una muestra representativa de tres ovejas para cada tratamiento y después de cada muestreo, los ovarios de las ovejas se examinaron mediante un transductor transrectal de 7.5 Mhz, integrado a un equipo de ultrasonografía (SONOACE Pico). Los folículos ováricos se cuantificaron y

clasificaron según su diámetro de 2 a 3 mm, de 4 a 5 mm y mayores de 6 mm ([Bartlewski et al., 2011](#)).

#### 4.4.4.7. Variables de estudio

- Desarrollo folicular ovárico (n). Conteo y clasificación de los folículos ováricos de acuerdo con su diámetro, presentes en ambos ovarios por oveja.
- Porcentaje de ovulación (%). Proporción de ovejas con niveles de P<sub>4</sub> mayores a 1 ng mL<sup>-1</sup> o con dos muestras consecutivas de 0.5 ng mL<sup>-1</sup>.
- Ovejas en estro (n). Cantidad de hembras que presentaron estro, en respuesta a la sincronización con el CIDR®, expresada en porcentaje.
- Inicio del estro (h). Tiempo transcurrido desde el retiro del CIDR® hasta que la oveja manifestó signos de estro.
- Cambio de peso (kg). Peso corporal de las ovejas registrado cada semana durante el periodo experimental, que se comparó en el tiempo para cada tratamiento y entre tratamientos por cada periodo de evaluación.

#### 4.4.4.8. Análisis estadístico

Se utilizó el software Statistical Analysis Systems® ([SAS Institute Inc, 2012](#)) para el análisis de los datos. La cantidad de folículos ováricos se analizaron con el procedimiento GLM, en un diseño completo con tratamientos aleatorizados (DCA) con efectos fijos en arreglo factorial 2\*2, cuyo modelo es el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + (\tau\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Donde:

Y<sub>ijk</sub> = Es el valor observado de la variable respuesta.

μ = Media general.

τ<sub>i</sub> = Efecto fijo de la nutrición focalizada en su i-ésimo nivel (i = sin, con).

β<sub>j</sub> = Efecto fijo de la condición corporal en su j-ésimo nivel (j = baja, alta).

(τβ)<sub>ij</sub> = Efecto de la interacción estado fisiológico y nutrición focalizada.

ε<sub>ijkl</sub> = Error experimental asociado a Y<sub>ijk</sub>; ε<sub>ijk</sub> ~ N(0, σ<sup>2</sup>).

La respuesta al estro y a la ovulación se analizó por medio de una regresión logística con PROC LOGISTIC mediante la prueba de Wald, cuyo modelo es el siguiente:

$$P(Y/X) = \frac{e^{\beta_0 + \beta_1 X}}{1 + e^{\beta_0 + \beta_1 X}}$$

Donde:

P(Y/X): Probabilidad de presentar estro u ovular dado el tratamiento X.

e: 2.71

$\beta_0$  y  $\beta_1$ : Coeficientes del modelo

Y: Respuesta (si o no)

X: Tratamiento

Para el inicio del estro, se realizó la prueba de [Shapiro y Wilk \(1965\)](#) para observar normalidad univariada y justificar el análisis con el método de curvas de supervivencia de Kaplan Meier y la Regresión de Cox ([Salinas, 2008](#)), y se usó la prueba de Log-Rank con el procedimiento LIFETEST, en el siguiente modelo:

$$H(t) = H(t)_0 * e^{(X_1 * \beta_1 + X_2 * \beta_2 + X_k * \beta_k)}$$

Donde:

H(t): función de riesgo (hazard ratio) de que la oveja inicie el estro al tiempo t.

H(t)<sub>0</sub>: función de riesgo mínima al tiempo t.

X<sub>k</sub>: variable predictora k

$\beta_k$ : constante asociada a la variable k.

El cambio de peso de las ovejas Pelibuey se comparó con un análisis de varianza mediante el procedimiento PROC MIXED ([Littell et al., 1998](#)). Se empleó LSMEANS para calcular las medias de los mínimos cuadrados de los efectos fijos, y ADJUST para ajustar las pruebas de comparación múltiple de medias en pares (Tukey,  $\alpha=0.05$ ), con un modelo mixto en un arreglo factorial 2\*2, modificado para observar los efectos principales e interacciones en el periodo de evaluación (semana), de la siguiente manera:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + B_j + A*B_{ij} + d_{ij} + P_k + (AP)_{ik} + (BP)_{jk} + (A*B*P)_{ijk} + E_{ijkl}$$

Donde:

$Y_{ijkl}$ = Variable respuesta,  $i= 1,2$ ;  $j= 1,2$ ;  $k= 1,2\dots 11$ ;  $l= 1,2$ .

$\mu$ = Media general

$A_i$ = Efecto del factor A, reconstituyente energético a nivel  $i$

$B_j$ = Efecto del factor B, 'efecto macho' al nivel  $j$

$P_k$ = Efecto del periodo P al nivel  $k$

$d_{ij}$ = Error aleatorio dentro de efectos principales (tratamientos)

$(AB)_{ij}$ ,  $(AP)_{ik}$ ,  $(BP)_{jk}$ ,  $(ABP)_{ijk}$ ,  $(AB)_{ij}$ = Efecto de las interacciones

$E_{ijkl}$ = Error aleatorio

#### 4.4.5. Resultados

##### 4.4.5.1. Actividad folicular ovárica

En las ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo, los efectos de la nutrición focalizada y de la condición corporal no influyeron ( $p>0.05$ ) en la cantidad de folículos ováricos de 2 a 3 mm y de 4 a 5 mm de diámetro. La condición corporal alta o baja no influyó ( $p>0.05$ ) en la cantidad de folículos ováricos mayores de 6 mm de diámetro en las ovejas sin nutrición focalizada. Esta respuesta fue similar ( $p>0.05$ ) en aquellas con nutrición focalizada y condición corporal baja, pero diferente ( $p<0.05$ ; Anexo 25) en las ovejas con nutrición focalizada y condición corporal alta (Cuadro 14).

Cuadro 14. Desarrollo folicular en ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo, en respuesta a la nutrición focalizada y a la condición corporal.

Tratamiento	Folículos ováricos <sup>†</sup> (n)		
	2 a 3 mm	4 a 5 mm	>6 mm
T1: Ovejas sin nutrición focalizada con condición corporal baja	2.6 ± 0.34 <sup>a</sup>	2.2 ± 0.14 <sup>a</sup>	0.9 ± 0.11 <sup>a</sup>
T2: Ovejas sin nutrición focalizada con condición corporal alta	3.0 ± 0.34 <sup>a</sup>	1.8 ± 0.14 <sup>a</sup>	1.5 ± 0.11 <sup>ab</sup>
T3: Ovejas con nutrición focalizada con condición corporal baja	2.4 ± 0.34 <sup>a</sup>	1.6 ± 0.14 <sup>a</sup>	1.2 ± 0.11 <sup>ab</sup>
T4: Ovejas con nutrición focalizada con condición corporal alta	3.1 ± 0.34 <sup>a</sup>	2.3 ± 0.14 <sup>a</sup>	1.8 ± 0.11 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>, <sup>b</sup>: Valores con distinta literal en la misma columna, son diferentes ( $p<0.05$ ).

<sup>†</sup>Media ± error estándar.

En las ovejas Pelibuey vacías, la cantidad de folículos ováricos de 2 a 3 mm y de 4 a 5 mm de diámetro fue similar ( $p>0.05$ ) en respuesta a los efectos de la nutrición focalizada y de la condición corporal. La condición corporal alta o baja, no influyó ( $p>0.05$ ) en la cantidad de folículos ováricos mayores de 6 mm de diámetro en las ovejas sin nutrición focalizada. Este efecto fue similar ( $p>0.05$ ) en aquellas con nutrición focalizada y condición corporal baja, pero diferente ( $p<0.05$ ) en las ovejas con nutrición focalizada y condición corporal alta (Cuadro 15).

Cuadro 15. Desarrollo folicular en ovejas Pelibuey vacías, en respuesta a la nutrición focalizada y condición corporal.

Tratamiento	Folículos ováricos <sup>†</sup> (n)		
	2 a 3 mm	4 a 5 mm	>6 mm
T1: Ovejas sin nutrición focalizada con condición corporal baja	3.2±0.33 <sup>a</sup>	1.4±0.14 <sup>a</sup>	1.2 ± 0.2 <sup>b</sup>
T2: Ovejas sin nutrición focalizada con condición corporal alta	2.9±0.33 <sup>a</sup>	1.9±0.14 <sup>a</sup>	1.3 ± 0.2 <sup>ab</sup>
T3: Ovejas con nutrición focalizada con condición corporal baja	2.8±0.33 <sup>a</sup>	1.2±0.14 <sup>a</sup>	1.6 ± 0.2 <sup>ab</sup>
T4: Ovejas con nutrición focalizada con condición corporal alta	2.8±0.33 <sup>a</sup>	1.4±0.14 <sup>a</sup>	2.2 ± 0.2 <sup>a</sup>

<sup>a, b</sup>: Valores con distinta literal en la misma columna, son diferentes ( $p<0.05$ ).

<sup>†</sup>Media ± error estándar.

Se observó que las ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo (AC) y aquellas vacías (V) suplementadas con nutrición focalizada y con condición corporal alta, aumentaron ( $p<0.05$ ) la cantidad de folículos ováricos mayores de 6 mm de diámetro ([Anexo 25](#)).

#### 4.4.5.2. Porcentaje de ovulación

En los experimentos de las ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo y de las vacías en el presente estudio, el radioinmunoanálisis reportó que la proporción de ovejas con concentración de progesterona mayor a 1 ng mL<sup>-1</sup> en una sola muestra, o que superó los 0.5 ng mL<sup>-1</sup> en dos muestras consecutivas, fue similar ( $p>0.05$ ; [Anexo 26](#)) por el efecto de los dos niveles de nutrición focalizada en la condición corporal alta o baja en las ovejas Pelibuey.

#### 4.4.5.3. Respuesta a la sincronización del estro

La nutrición focalizada, la condición corporal y la interacción entre factores, no influyeron ( $p>0.05$ ; Anexo 27) en la respuesta y en el inicio del estro en las ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo (Cuadro 16) y en las ovejas vacías (Cuadro 17). Los datos para el inicio del estro no presentaron normalidad univariada ( $p<0.05$ ; Anexo 28).

Cuadro 16. Respuesta al estro en ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo dos niveles de nutrición focalizada y condición corporal.

Tratamiento	n	Ovejas en estro		Inicio del estro <sup>†</sup> (h)
		n	%	
T1: Ovejas sin nutrición focalizada con condición corporal baja	14	11	78.6 <sup>a</sup>	47.1 ± 4.9 <sup>a</sup>
T2: Ovejas sin nutrición focalizada con condición corporal alta	13	10	76.9 <sup>a</sup>	47.6 ± 5.3 <sup>a</sup>
T3: Ovejas con nutrición focalizada con condición corporal baja	12	8	66.7 <sup>a</sup>	56.0 ± 5.1 <sup>a</sup>
T4: Ovejas con nutrición focalizada con condición corporal alta	13	11	84.6 <sup>a</sup>	47.1 ± 6.2 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>: Valores con misma literal en una columna son similares ( $p>0.05$ ).

<sup>†</sup>Media ± error estándar.

Cuadro 17. Respuesta al estro de ovejas Pelibuey vacías con dos niveles de nutrición focalizada y condición corporal.

Tratamiento	n	Ovejas en estro		Inicio del estro <sup>†</sup> (h)
		n	%	
T1: Ovejas sin nutrición focalizada con condición corporal baja	18	14	77.8 <sup>a</sup>	36.2 ± 1.7 <sup>a</sup>
T2: Ovejas sin nutrición focalizada con condición corporal alta	18	13	78.2 <sup>a</sup>	43.1 ± 5.0 <sup>a</sup>
T3: Ovejas con nutrición focalizada con condición corporal baja	15	13	86.7 <sup>a</sup>	58.6 ± 9.8 <sup>a</sup>
T4: Ovejas con nutrición focalizada con condición corporal alta	18	13	72.2 <sup>a</sup>	58.6 ± 9.8 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>: Valores con misma literal en columna, son similares ( $p>0.05$ ).

<sup>†</sup>Media ± error estándar.

#### 4.5.4.4. Cambio de peso

El peso corporal de las ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo en respuesta a los efectos principales de la nutrición focalizada, la condición corporal y la interacción entre factores, fue diferente ( $p < 0.05$ ). Se observaron diferencias ( $p < 0.05$ ) en el peso promedio de las ovejas Pelibuey con condición corporal alta o baja, para cada nivel de nutrición focalizada ofrecido durante el periodo de sincronización (Cuadro 18).

El peso corporal de las ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo fue diferente ( $p < 0.05$ ) para cada periodo de evaluación entre tratamientos. El mayor peso registrado en cada periodo de evaluación se observó en las ovejas con nutrición focalizada con condición corporal alta ( $p < 0.05$ ; T4: ACcNFCCa) y el menor peso se apreció en aquellas sin nutrición focalizada con condición corporal baja ( $p < 0.05$ ; T1: ACsNFCCb). Se registró un aumento de peso ( $p < 0.05$ ) a partir de los 63 d postparto y se mantuvo similar ( $p > 0.05$ ) hasta los 70 d postparto (Cuadro 18).

Los efectos principales de la nutrición focalizada, la condición corporal y la interacción entre factores, influyeron ( $p < 0.05$ ) en el peso corporal de las ovejas Pelibuey vacías. El peso promedio de las ovejas Pelibuey con condición corporal alta o baja, para cada nivel de nutrición focalizada ofrecido durante el periodo de sincronización, fue diferente ( $p < 0.05$ ; Cuadro 19). El menor peso registrado en cada periodo de evaluación lo presentaron las ovejas con nutrición focalizada, con condición corporal baja ( $p < 0.05$ ; T4: VAcNFCCb).

Se registró un aumento de peso ( $p < 0.05$ ) a partir de los 56 d postparto en las ovejas sin nutrición focalizada y con condición corporal alta y en aquellas con nutrición focalizada y con condición corporal baja (T2: VAsNFCCa y T3: VAcNFCCb, respectivamente). Las ovejas sin nutrición focalizada y con condición corporal baja y en aquellas con nutrición focalizada y con condición corporal alta (T1: VAsNFCCb y T4: VAcNFCCa, respectivamente) aumentaron ( $p < 0.05$ ) y mantuvieron ( $p > 0.05$ ) su peso a partir de los 70 d postparto (Cuadro 19).

Cuadro 18. Cambio de peso en ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo en respuesta a la nutrición focalizada y a la condición corporal.

Tratamiento	Periodo postparto (d)						$\bar{x}$
	35	42	49	56	63	70	
T1: Ovejas sin nutrición focalizada con condición corporal baja	41.4 <sup>bC</sup>	43.3 <sup>bB</sup>	42.3 <sup>cBC</sup>	42.4 <sup>bBC</sup>	46.7 <sup>bA</sup>	46.8 <sup>bA</sup>	43.8 <sup>d</sup>
T2: Ovejas sin nutrición focalizada con condición corporal alta	48.0 <sup>bBC</sup>	48.9 <sup>abB</sup>	49.3 <sup>abB</sup>	47.2 <sup>abC</sup>	53.1 <sup>abA</sup>	52.0 <sup>abA</sup>	49.7 <sup>b</sup>
T3: Ovejas con nutrición focalizada con condición corporal baja	45.7 <sup>bB</sup>	45.4 <sup>bB</sup>	45.4 <sup>bcB</sup>	45.7 <sup>aB</sup>	49.6 <sup>bA</sup>	48.9 <sup>bA</sup>	46.8 <sup>c</sup>
T4: Ovejas con nutrición focalizada con condición corporal alta	56.3 <sup>aB</sup>	53.3 <sup>aCD</sup>	53.9 <sup>aC</sup>	52.0 <sup>aD</sup>	58.6 <sup>aA</sup>	58.6 <sup>aA</sup>	55.5 <sup>a</sup>

a, b, c: Valores con distinta literal minúscula en la misma columna son diferentes ( $p < 0.05$ ).

A, B, C, D: Valores con diferente literal mayúscula en la misma fila difieren ( $p < 0.05$ ).

Cuadro 19. Cambio de peso en ovejas Pelibuey vacías en respuesta a la nutrición focalizada y a la condición corporal.

Tratamiento	Periodo experimental (d)						$\bar{x}$
	35	42	49	56	63	70	
T1: Ovejas sin nutrición focalizada con condición corporal baja	50.4 <sup>aBC</sup>	50.0 <sup>aC</sup>	50.6 <sup>aBC</sup>	51.8 <sup>aB</sup>	54.3 <sup>aA</sup>	53.2 <sup>aA</sup>	51.7 <sup>b</sup>
T2: Ovejas sin nutrición focalizada con condición corporal alta	56.3 <sup>aBC</sup>	55.9 <sup>aC</sup>	56.7 <sup>aCB</sup>	57.6 <sup>aAB</sup>	61.1 <sup>aA</sup>	60.5 <sup>aA</sup>	58.0 <sup>a</sup>
T3: Ovejas con nutrición focalizada con condición corporal baja	40.7 <sup>bB</sup>	40.5 <sup>bB</sup>	40.9 <sup>bB</sup>	42.0 <sup>bAB</sup>	44.4 <sup>bA</sup>	42.8 <sup>bAB</sup>	41.9 <sup>c</sup>
T4: Ovejas con nutrición focalizada con condición corporal alta	55.1 <sup>aB</sup>	53.0 <sup>aC</sup>	53.4 <sup>aC</sup>	51.8 <sup>aD</sup>	57.3 <sup>aA</sup>	57.1 <sup>aA</sup>	54.6 <sup>ab</sup>

a, b, c: Valores con distinta literal minúscula en la misma columna son diferentes ( $p < 0.05$ ).

A, B, C, D: Valores con diferente literal mayúscula en la misma fila difieren ( $p < 0.05$ ).

#### 4.4.6. Discusión

##### Actividad folicular ovárica

Las deficiencias nutricionales, ya sea por los nutrientes en la dieta o por los intermediarios metabólicos, afectan la foliculogénesis en el eje hipotálamo-hipófisis-ovario (Scaramuzzi *et al.*, 2011). La acción de los nutrientes en la actividad ovárica influye en la foliculogénesis, aunque el número de folículos ováricos no aumente en respuesta a la suplementación (Somchit *et al.*, 2007). El componente de la dieta, que probablemente sea el más importante en la función ovárica, es la energía derivada de la glucosa, aunque la evidencia en favor de cualquier nutriente en particular es aún controversial, y las interrelaciones precisas entre la función ovárica y los componentes de la dieta todavía no son claros (Scaramuzzi y Martin, 2008).

Somchit *et al.* (2007) alimentaron con heno y suplementaron a diario con 500 g de lupino (*Lupinus luteus*) a ovejas Welsh Mountain y no obtuvieron similitud en la cantidad de folículos de 2.0 a 2.4 mm, 2.5 a 3.5 mm y mayores de 3.5 mm de diámetro. Lo cual difiere con la similitud en la cantidad de folículos de 2 a 3 mm y 4 a 5 mm de diámetro en las ovejas Pelibuey con condición corporal alta o baja con diferente nivel de nutrición focalizada, en el presente estudio. La relación entre la condición corporal y la nutrición focalizada en periodos cortos, aún es tema controversial. Morley *et al.* (1978) reportaron que ovejas con condición corporal 2 (escala 0 a 5 unidades; Russel *et al.*, 1969) respondieron mejor a la nutrición focalizada en periodos cortos, con respecto a aquellas con mejor condición corporal. Leury *et al.* (1990) observaron que la condición corporal alta, responde mejor a la nutrición focalizada comparada con la condición corporal baja. Este efecto coincide con los resultados obtenidos en el presente estudio, para las ovejas Pelibuey con condición corporal alta, alimentadas con nutrición focalizada durante el periodo de sincronización, lo cual se reflejó en la cantidad de folículos mayores de 6 mm de diámetro.

Hashem *et al.* (2011) reportaron que las ovejas en época de anestro presentaron actividad ovárica con folículos de diámetros menores de 4 mm ( $0.9 \pm 0.2$ ), menores

( $0.5\pm 0.3$ ) y mayores de 5 mm ( $0.6\pm 1.0$ ). [Huchkowsky et al. \(2002\)](#) reportaron folículos de diferente diámetro,  $4.1\pm 0.3$  (2 mm),  $2.0\pm 0.1$  (3 mm),  $1.3\pm 0.1$  (4 mm) y  $0.4\pm 0.1$  (>5 mm) en ovejas Western White-Faced en anestro temprano. [Vilariño et al. \(2013\)](#) sincronizaron el estro en ovejas con CIDR® usados por primera, segunda y tercera ocasión, y reportaron que el diámetro folicular a la ovulación fue  $5.6\pm 0.6$ ,  $6.7\pm 0.8$  y  $5.6\pm 0.5$  mm, respectivamente. [Bartlewski et al. \(2001\)](#) observaron que el promedio de los folículos antrales de 3 mm de diámetro no aumentó y se redujeron en los ovarios que contenían CL, en ovejas que ovularon de manera unilateral. Lo cual sugiere que, las estructuras lúteas pueden suprimir localmente el crecimiento de folículos antrales ováricos de diámetros diferentes de 3 mm, pero no es un efecto inhibitor de los CL en el crecimiento de los folículos ováricos para los diámetros más grandes. Además, la presencia de estructuras lúteas no parece afectar la longitud de la vida útil de los folículos que alcanzan diámetro mayor de 5 mm, ni la cantidad de ovulaciones por ovario en ovejas cíclicas. Por lo cual, el crecimiento de los folículos antrales posiblemente sea sistémico a nivel local y se atribuya a los efectos de la progesterona ([Bartlewski et al., 2011](#)).

[De la Isla-Rivera et al. \(2011\)](#) encontraron similitud en la cantidad de folículos con diámetro máximo, en ovejas con condición corporal alta o baja y observaron que la cantidad de folículos mayores de 4 mm, se incrementó en aquellas cuando la condición corporal baja aumentaba, pero no se modificó cuando la condición corporal alta disminuía. Lo cual difiere con los resultados obtenidos en la cantidad de folículos mayores de 6 mm de diámetro en las ovejas Pelibuey sin nutrición focalizada, con condición corporal alta o baja, en el presente estudio. Es posible que la condición corporal en la oveja aumente la cantidad de folículos de mayor diámetro folicular y ésta respuesta, se atribuya al aprovechamiento de los nutrientes adicionados a la nutrición focalizada. [Viñoles et al. \(2009a\)](#) evaluaron la asociación entre los efectos estático (condición corporal) e inmediato (suplementación de corta duración) de la nutrición y observaron que las ovejas con condición corporal alta (4 unidades) respondieron mejor a la suplementación, con respecto a aquellas con condición corporal baja (2 unidades; [Russel et al., 1969](#)).

En ovejas, un patrón de tres oleadas de desarrollo folicular se asocia al incremento en la velocidad y al número de folículos de recambio (Evans, 2003). Además, se relaciona la cantidad de oleadas foliculares con la tasa de ovulación, y si esta asociación resulta positiva, mayor cantidad de folículos estén disponibles para reclutarse dentro de una oleada ovulatoria. Por lo tanto, se requieren más estudios para determinar la condición corporal en ovejas, en la cual se optimice la respuesta a la suplementación de corta duración para aumentar la tasa ovulatoria.

#### Porcentaje de ovulación

Investigaciones realizadas en la misma área de estudio de la presente investigación, reportaron que el porcentaje de ovulación en ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo sin hormonas exógenas, fue 70.0% a los 60.5±2.7 d postparto (d PP; Morales-Terán *et al.*, 2004), 18.8% a los 52.6±2.0 dPP (Pérez-Hernández *et al.*, 2009), 35.7% a los 56.7±1.7 d PP (Morales-Terán *et al.*, 2011) y 52.1% a los 35 d PP, pero en ovejas estimuladas con 'efecto macho', previo a la sincronización con CIDR® (Castillo-Maldonado *et al.*, 2013). Estos resultados difieren con el 95% de ovulación promedio, obtenido en las ovejas Pelibuey con condición corporal alta o baja, con nutrición focalizada durante el periodo de sincronización con CIDR® por 9 d, en la presente investigación. Estas diferencias se atribuyen a que la sincronización del estro del presente estudio, se realizó durante abril a junio. Además, no se consideró el estímulo del carnero ('efecto macho'), previo a la sincronización del estro, lo cual indica que algunas ovejas Pelibuey son capaces de mostrar actividad reproductiva continua durante los meses del anestro (Valencia *et al.*, 2006), pero la presencia del carnero durante la detección del estro ejerce un efecto estimulador durante la actividad estral (Ungerfeld *et al.*, 2013). Por lo tanto, es posible que los efectos de los factores ambientales como la época reproductiva, la región geográfica, el fotoperiodo, el nivel nutricional y el estado fisiológico, influyan en la respuesta reproductiva en las ovejas (Hashem *et al.*, 2011). Con respecto al aporte nutricional, existe evidencia de que la tasa ovulatoria aumenta con una mejor nutrición (flushing) durante un período de 10 días antes del apareamiento. Incluso, en periodos más cortos, a partir de 4 a 8 d antes de la ovulación, que coinciden con la

oleada folicular (Viñoles *et al.*, 2009b). Sin embargo, se recomienda que en un periodo más prolongado, la nutrición en las ovejas se realice 10 d antes de la introducción de los carneros (Robinson *et al.*, 2006). Por tanto, la nutrición ejerce diferentes efectos en la actividad ovárica, como la inhibición completa de la reproducción, en respuesta a la desnutrición a través del mecanismo hipotalámico que controla la ovulación y, por otro lado, mejora la fecundidad con la suplementación nutricional, a través de un mecanismo directo del ovario, en las ovejas ovulando (Scaramuzzi y Martin, 2008).

#### Respuesta a la sincronización del estro

La reproducción de pequeños rumiantes se controla con varios métodos desarrollados en las últimas décadas. La progesterona (P<sub>4</sub>) o sus análogos actúan en la fase lútea del ciclo y simulan la acción de la P<sub>4</sub> natural producida por el CL después de la ovulación (Abecia *et al.*, 2012). Hashem *et al.* (2011) evaluaron la respuesta al estro en ovejas lactantes alrededor de 40 a 120 d postparto y reportaron 34% (32/94) de respuesta al estro. Franco-Guerra *et al.* (2012) sincronizaron el estro en ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo, con FGA por 12 d más 300 UI de eCG aplicadas 48 h antes del retiro de la esponja, y no obtuvieron respuesta a los 30 d postparto, pero observaron 60% de respuesta a los 60 d postparto. Estos resultados difieren con lo obtenido en el presente estudio, en ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo (>66%) y en ovejas vacías (>72%), con condición corporal alta o baja, respondieron al estro postparto por efecto de la nutrición focalizada ofrecida durante el periodo de sincronización. Por tanto, es posible atribuir estos efectos al estado fisiológico de las ovejas, debido a que la respuesta es favorable, según la adición de la ingesta de acuerdo con la condición corporal. Los efectos del amamantamiento también se consideran, debido a que la lactancia incrementa el anestro posparto (Morales-Terán *et al.*, 2004) y es evidente cuando se reduce el período de destete, porque se relaciona con el inicio del estro posparto (Pérez-Hernández *et al.*, 2009); o cuando las ovejas amamantan a dos corderos, porque se manifiesta un período mucho más prolongado entre el parto y la gestación, que cuando amamantan a uno (Herrera *et al.*, 2010).

Castillo-Maldonado *et al.* (2013) reportaron 100% de respuesta al estro en ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo, sincronizadas a los 35 d postparto con CIDR® durante 9 d; lo cual difiere con lo obtenido en el presente estudio, lo cual se atribuye al estímulo previo el carnero y al control del amamantamiento. Además, es posible relacionar los efectos de la nutrición con los eventos reproductivos, en el equilibrio de la energía, lo cual se observa cuando los requerimientos nutricionales son mayores a la ingesta de nutrientes, porque los animales utilizan sus reservas de energía (glucógeno, triglicéridos y proteínas) para cubrir el déficit; por el contrario, si un animal está deficiente, se encuentra en "balance negativo de energía", lo mismo ocurre cuando el requerimiento de nutrientes es menor que el consumo, el animal lo almacena (en forma de glucógeno y triglicéridos) o lo dispersa en calor metabólico (Scaramuzzi *et al.*, 2006). Por lo anterior, los mecanismos de los efectos nutricionales en la foliculogénesis, probablemente no se relacionan con el suministro de los nutrientes y correspondan a los efectos de nutrientes específicos de señalización que enlazan la reproducción con las condiciones ambientales favorables para la reproducción (Somchit-Assavacheep *et al.*, 2011). En contraste, la restricción nutricional, incluso durante un período corto, se relaciona con la presencia de folículos grandes en fase de crecimiento, que a pesar de alcanzar la ovulación, se mantienen estáticos durante la fase folicular inducida y el desarrollo de los folículos subordinados no se inhibe (Sosa *et al.*, 2010).

#### Inicio de estro

El uso de progestágenos en ovejas amamantando, mejora el porcentaje de respuesta al estro, lo cual sugiere que los progestágenos disminuyen el efecto negativo del amamantamiento durante el anestro postparto (Smart *et al.*, 1994) y la restricción del amamantamiento acelera la presentación del estro postparto (Camacho-Ronquillo *et al.*, 2008; Castillo-Maldonado *et al.*, 2013). Estas aseveraciones difieren con los resultados obtenidos en las ovejas Pelibuey en el presente estudio; sin embargo, coinciden con lo reportado por Abecia *et al.* (2012), quienes mencionaron que al sincronizar el estro con CIDR® durante 12 a 14 días, las ovejas presentaron estro 48 h después del retiro del dispositivo. El inicio del estro obtenido en el presente estudio,

se atribuye al efecto de la nutrición focalizada ofrecida durante la sincronización, o al estado fisiológico de las ovejas con diferente condición corporal. El uso estratégico de suplementos nutricionales es una herramienta de gestión en los sistemas de producción. Investigaciones recientes sugieren maximizar el potencial prolífico (tasa de ovulación), para evitar la pérdida de embriones, la programación de la productividad futura de la descendencia, la maximización del desarrollo y la supervivencia postnatal (Martin *et al.*, 2004). Es posible considerar cada período de enfoque alimenticio, para diferenciar la composición y la duración de la dieta, y también la relación entre la condición corporal con la respuesta reproductiva de cada oveja (Martin y Kadokawa, 2006). Al respecto, Araujo *et al.* (2009) observaron que la condición corporal de ovejas Santa Inés aumentó a los 56 d postparto y que la duración en el reinicio de la actividad ovárica postparto fue similar ( $p>0.05$ ;  $34.1\pm 15.3$  d postparto), en respuesta a diferentes niveles de inclusión de cáscara de soya en la dieta.

#### Cambio de peso

De la Isla-Herrera *et al.* (2011) reportaron que el peso final promedio de ovejas con condición corporal alta fue de  $32.1\pm 1.3$  kg, lo cual representó una pérdida promedio de 8.5 kg, mientras que aquellas con condición corporal baja ganaron 5.9 kg aproximadamente, después de alimentarlas con una dieta a base de maíz molido (21.4%), harina de soya (18.1%), heno de *Brachiaria brizantha* (48.7%), melaza (8.6%) y minerales (3.2%); sincronizadas con 40 mg de FGA durante 12 d. Estos resultados difieren con los obtenidos en el presente estudio, donde las ovejas Pelibuey vacías, con condición corporal alta o baja a diferentes niveles de nutrición focalizada, no disminuyeron su peso corporal durante el periodo experimental. Además, el mayor peso se registró en aquellas ovejas alimentadas con nutrición focalizada, con condición corporal alta, y el cambio de peso se observó después de 21 d de la asignación al tratamiento. Lo anterior, se atribuye al efecto de la nutrición focalizada en las ovejas Pelibuey vacías con condición corporal baja, debido a que la adición extra de una ración alimenticia favorece el peso y la condición corporal (Khalifa *et al.*, 2013).

#### 4.7. Conclusiones

La nutrición focalizada aumenta la cantidad de folículos ováricos mayores de 6 mm de diámetro en las ovejas Pelibuey de condición corporal alta con amamantamiento continuo y en aquellas no gestantes sin crías lactantes.

Los efectos de la nutrición focalizada durante la sincronización del estro con CIDR®, no afecta el desarrollo de folículos ováricos de 2 a 3 mm y de 4 a 5 mm de diámetro, la respuesta al estro, el inicio del estro y el porcentaje de ovulación en las ovejas con condición corporal alta o baja, no gestantes sin crías lactantes y en aquellas con amamantamiento continuo.

Las ovejas Pelibuey con condición corporal alta, con amamantamiento continuo y no gestantes sin crías lactantes, incrementan su peso corporal en respuesta a la nutrición focalizada ofrecida durante la sincronización del estro.

## V. DISCUSIÓN GENERAL

La reproducción en pequeños rumiantes responde a los factores ambientales que incluyen el fotoperiodo, la nutrición, el estrés y la bioestimulación. Por tanto, el control de los efectos individuales o la combinación de estos factores permiten que la reproducción en los ovinos se manipule sin la aplicación de hormonas exógenas (Scaramuzzi y Martin, 2008).

En el EXP1 del Estudio I, las ovejas Pelibuey prepúberes estimuladas con 'efecto macho' y aquellas con la interacción del suministro del reconstituyente energético y el estímulo del 'efecto macho', presentaron mayor tasa ovulatoria ( $p < 0.05$ ). Este efecto no aumentó ( $p > 0.05$ ) la cantidad de los folículos ováricos según su diámetro (2 a 3 mm, 4 a 5 mm y mayores de 6 mm). Aunque la cantidad de folículos ováricos se aumenta con la suplementación de energía y proteína en la dieta, lo cual se asocia con el efecto de la nutrición a corto plazo (Somchit *et al.*, 2007). No obstante, la acción del reconstituyente energético no tuvo este efecto ( $p > 0.05$ ), lo cual se atribuye a una mayor atresia folicular que hizo posible la presencia de pocos folículos reclutados y seleccionados para el crecimiento, la maduración y la ovulación (Driancourt y Fry, 1988).

Las ovejas Pelibuey prepúberes suministradas con el reconstituyente energético y aquellas con la interacción con el 'efecto macho', presentaron el pico preovulatorio de la hormona luteinizante (LH) y su caracterización (inicio, duración, amplitud y concentración) fue similar ( $p > 0.05$ ) entre tratamientos. Por el contrario, la presencia del carnero ('efecto macho') estimula e induce a la ovulación en la mayoría de las ovejas prepúberes en época reproductiva (Al-Maully *et al.*, 1991). Sin embargo, en el EXP1, se observó una baja respuesta a la ovulación en las ovejas Pelibuey prepúberes en respuesta al 'efecto macho' (sRECcEM); esta respuesta se atribuye a los mecanismos defectuosos de la función luteal que se presentan al momento del 'efecto macho' y no tienen un componente adicional en la nutrición de las ovejas (Scaramuzzi *et al.*, 2013).

Es posible que las condiciones de manejo a las que se sometieron las ovejas Pelibuey prepúberes al explorarlas por laparoscopia o al colectarles la sangre de la vena yugular, se consideren como factores estresantes para los eventos reproductivos; por lo cual, la disminución en peso y la baja condición corporal a la primera ovulación sean una consecuencia (Dobson *et al.*, 2012).

La sincronización del estro se controla mediante hormonas exógenas y la combinación con métodos no hormonales como el 'efecto macho' (Abecia *et al.*, 2012). En el EXP2 del Estudio I, el estímulo previo con 'efecto macho', no influyó ( $p>0.05$ ) en la respuesta a la sincronización del estro con dispositivos intravaginales liberadores de progesterona (CIDR®), pero adelantó ( $p<0.05$ ) el inicio del estro. La presencia del carnero en ovejas con amamantamiento, responde al estro durante el periodo postparto (Arteaga *et al.*, 2007). Además, el suministro previo del acetato de fertirelin y el estímulo con 'efecto macho', favorecieron la respuesta al estro, debido a que la respuesta a la sincronización del estro en ovejas, se mejora por la acción del 'efecto macho' y de los análogos de la GnRH (Mirzaei *et al.*, 2011). Es posible que la eficacia de los dispositivos intravaginales, en relación a la cantidad de progesterona, fue suficiente para que las ovejas expresaran el estro, aún con el estímulo previo del carnero, y quizás el 'efecto macho' fue la diferencia en el inicio del estro (Jackson *et al.*, 2014). Lo anterior, describe que el manejo reproductivo en ovejas estimuladas con el carnero, no se relaciona solo con ovejas de mayor actividad cíclica, debido a que el 'efecto macho' se realiza en combinación con protocolos de sincronización en ovejas con diferente estado fisiológico, raza y en distinta época del año (Chanvallon *et al.*, 2011).

En el EXP2, el estímulo con 'efecto macho' previo a la sincronización con CIDR®, aumentó ( $p<0.05$ ) la prolificidad, pero no influyó ( $p>0.05$ ) en la fecundidad de las ovejas Pelibuey prepúberes. La prolificidad y la fecundidad de las ovejas con métodos naturales no hormonales difieren con la obtenida en combinación con los protocolos de manejo reproductivo tradicionales (Ungerfeld *et al.*, 1999; Ungerfeld, 2009).

Los protocolos de manejo reproductivo, usan progestágenos que simulan la acción del cuerpo lúteo, y prostaglandinas, que lo eliminan e inducen una fase folicular y la ovulación (Abecia *et al.*, 2012). El 'efecto macho' también es capaz de inducir la ovulación, por la acción de las feromonas (Hawken y Martin, 2012). En el Estudio II, el estímulo del 'efecto macho' en las ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo, previo a la aplicación del progestágeno, no influyó ( $p>0.05$ ) en la respuesta al estro, en la tasa de parición y en la prolificidad. Esta respuesta se atribuye al efecto del amamantamiento continuo durante el periodo postparto, debido a que la frecuencia en la secreción de los pulsos de la GnRH es insuficiente para inducir la maduración folicular y el pico preovulatorio de la LH (Wise, 1990), y si la ovulación ocurrió, con frecuencia es acompañada de un cuerpo lúteo de corta duración. Sin embargo, los efectos positivos ( $p<0.05$ ) se observaron para el inicio del estro, el porcentaje del retorno al estro y la fecundidad, lo cual se relaciona con el estímulo previo con 'efecto macho'. Durante el periodo postparto, existe una inadecuada secreción de la LH, debido al efecto inhibitorio que ejerce el estradiol para la liberación de la LH (Karsh *et al.*, 1980); por tanto, el estímulo que ejercen las feromonas del carnero en la oveja, responde al aumento en la secreción de la LH y reduce el efecto inhibitorio del estradiol (Martin, 1983).

El 'efecto macho' en las ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo sincronizadas con dos dosis de prostaglandinas, no influyó ( $p>0.05$ ) en el inicio del estro, en las tasas de gestación y de parición, y en la prolificidad. Esta respuesta que debe a los efectos principales del estímulo del carnero o a la separación por 48 h entre madres y crías (destete temporal). Durante el postparto, la introducción del carnero con las ovejas con amamantamiento continuo, debe realizarse a partir de los siete días posteriores al parto (Godfrey *et al.*, 1998), debido a que en las etapas muy próximas al parto, existen concentraciones bajas de la LH en la adenohipófisis (Yavas y Walton, 2000). El periodo de aislamiento antes de introducir los carneros con las ovejas expuestas al 'efecto macho', la distancia de separación entre los corrales de los animales, la intensidad o duración del contacto durante la bioestimulación y el contacto físico entre machos y hembras, permitan mayor

estimulación comparado con el contacto olfatorio, auditivo o visual (Pearce y Oldham, 1988). Otra posible causa se relaciona con la dosis usada o el intervalo de aplicación de las prostaglandinas en las ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo, independientemente si éstas se estimularon con 'efecto macho' o se les realizó el destete temporal. Lo anterior, se atribuye a que en el momento de aplicación de las prostaglandinas, algunas ovejas presentaron algún cuerpo lúteo en regresión, en proceso de maduración, o manifestaron estro, en lugar de presentar un cuerpo lúteo activamente maduro (Acryptopoulou y Haresign, 1980). En el caso de la sincronización con prostaglandinas en la presente investigación, correspondió a la aplicación de dos dosis con un intervalo de separación de nueve días, lo cual permitió que las ovejas presentaran un cuerpo lúteo activo al momento de aplicar la segunda dosis de prostaglandinas (Keisler, 2007). Además, la inhibición del efecto del amamantamiento en el restablecimiento de la actividad ovárica postparto, se reduce con la separación temporal de las crías (Rodríguez *et al.*, 1986). Por tanto, el estímulo con 'efecto macho' previo a la primera dosis de prostaglandinas y el destete temporal posterior a la segunda dosis de prostaglandinas en las ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo, favorecieron ( $p < 0.05$ ) la respuesta al estro (Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2005), el porcentaje de retorno al estro y la fecundidad.

Independientemente del tipo de inseminación (monta natural o inseminación artificial), los rendimientos obtenidos con el uso de los progestágenos o prostaglandinas se limitan por un menor porcentaje de fertilidad, en comparación con los resultados obtenidos con estros espontáneos (Donovan *et al.*, 2004). Por lo anterior, el uso de diferentes protocolos de sincronización, resultan favorables al combinarlos con el 'efecto macho' en las ovejas Pelibuey postparto con amamantamiento continuo.

En los últimos años, el 'efecto macho' se realiza en los tratamientos hormonales para la sincronización del estro (para aumentar la secreción de la LH que produce el 'efecto macho'); esta combinación constituye una alternativa eficaz para reducir costos y mejorar la eficiencia en los programas de inseminación artificial (Lucidi *et al.*,

2000; Ungerfeld *et al.*, 2003; Kenji *et al.*, 2004; Hawken *et al.*, 2005). Esta alternativa de manejo se recomienda en las ovejas Pelibuey para mejorar la eficiencia productiva y reproductiva. El suministro de progesterona o progestágenos favorecen la presentación del estro fértil en ovejas en anestro (Knights *et al.*, 2001), el aumento de la tasa de gestación en ovejas prepúberes (Stellflug *et al.*, 2001), el aumento en porcentaje en la respuesta al estro, las tasa de gestación y de parición (Dixon *et al.*, 2006). Así, los protocolos de sincronización del estro de corta duración (Pinna *et al.*, 2012) y la exposición al macho (Ungerfeld *et al.*, 2013), resultan eficaces para evitar la ovulación de folículos maduros en comparación con los protocolos tradicionales de 12 a 14 días de permanencia del progestágeno (CIDR®) y la progesterona residual contenida, se aprovecha para realizar posteriores protocolos (Vilariño *et al.*, 2013); lo anterior se observó en la reducción del inicio al estro y el aumento en la fecundidad en las ovejas Pelibuey prepúberes inducidas al estro y en las adultas postparto sincronizadas con dispositivos intravaginales reutilizados (Estudio III).

Durante el amamantamiento continuo de la cría en el periodo postparto se observan pérdidas de peso corporal en ovejas Pelibuey (Morales-Terán *et al.*, 2004). Lo anterior coincide con lo observado en las ovejas con amamantamiento continuo en el Estudio II de la presente investigación, en la cual, se explicó que las diferencias observadas en los cambios de peso de las ovejas, respondían a los efectos de la interacción de los tratamientos por el periodo de evaluación. En contraste, la modalidad de amamantamiento continuo no influye en los cambios de peso corporal de las ovejas Pelibuey durante el periodo postparto (Morales-Terán *et al.*, 2011; Castillo-Maldonado *et al.*, 2013). Este efecto, también se observó en las ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo en el Estudio III, lo cual se relaciona con la producción de leche, la movilización de las reservas energéticas corporales durante la lactancia (Pérez-Hernández *et al.*, 2006) y se considera que las ovejas pierden 5 al 10% de su peso corporal durante la lactancia, lo cual representa 0.5 a 1.0 puntos en la escala de la condición corporal (Sheep Production Handbook, 2002).

El factor nutricional es de gran importancia en los eventos reproductivos en los animales domésticos. Una reducción del aporte nutricional se observa en la pérdida de peso y en la condición corporal, lo cual retrasa el inicio de la pubertad, prolonga el intervalo entre el parto y la nueva concepción postparto, afecta la ciclicidad ovárica normal, en respuesta a la disminución en la secreción de gonadotropinas, y aumenta la infertilidad en ovejas (Boland *et al.*, 2001). En el estudio IV, se observó un incremento ( $p < 0.05$ ) en la cantidad de folículos ováricos mayores de 6 mm de diámetro, en las ovejas Pelibuey con diferente estado fisiológico (vacías o con amamantamiento), con condición corporal alta, en respuesta a la adición de una dieta con alto contenido de energía y proteína durante la sincronización del estro con progestágenos; sin embargo, la relación de la condición corporal con la nutrición focalizada, aun es un tema controversial.

Es importante considerar para ovejas gestantes, el peso y la condición corporal después del parto, el número de crías que amamantan, la época del año y el tipo de nutrientes que se adicionan para favorecer la eficiencia reproductiva. Sin embargo, para cada período de enfoque alimenticio, se debe diferenciar la composición y la duración de la dieta, así como la relación que existe entre la condición corporal y la respuesta reproductiva de cada oveja (Martin y Kadokawa, 2006). Por el contrario, en ovejas sin crías, el factor nutricional responde durante los periodos cortos en la sincronización del estro, debido a que no existen factores externos que afectan su respuesta, como el amamantamiento y la lactancia (Hashem *et al.*, 2011), y se favorece con la presencia de los carneros para realizar el 'efecto macho' (Robinson *et al.* 2006).

## **VI. CONCLUSIONES GENERALES**

En ovejas Pelibuey prepúberes, la interacción del reconstituyente energético y el 'efecto macho', incrementa la tasa ovulatoria, induce la ovulación y la presentación del pico preovulatorio de la LH. La acción del reconstituyente energético y la interacción del reconstituyente energético con el 'efecto macho', influyen en el cambio de peso corporal en el tiempo. El 'efecto macho' en ovejas suministradas con el reconstituyente energético, adelanta el inicio al estro y aumenta la prolificidad, en respuesta a la sincronización del estro con progestágenos en presentación de dispositivos intravaginales. En la sincronización del estro con dispositivos intravaginales reutilizados, el 'efecto macho' adelanta el inicio al estro, reduce el porcentaje del retorno al estro y aumenta la fecundidad.

En ovejas Pelibuey postparto con amamantamiento continuo, el 'efecto macho' adelanta el inicio al estro, reduce el porcentaje de retorno al estro, aumenta la tasa de gestación y la fecundidad, en respuesta a la sincronización del estro con progestágenos en presentación de dispositivos intravaginales. En la sincronización del estro con dispositivos intravaginales reutilizados, el 'efecto macho' adelanta el inicio al estro y aumenta la prolificidad. En la sincronización del estro con dos dosis de prostaglandinas, la interacción del 'efecto macho' con el destete temporal, mejora la respuesta al estro, reduce el porcentaje de retorno al estro e incrementa la fecundidad.

La nutrición focalizada durante la sincronización del estro, incrementa la cantidad de folículos ováricos mayores de 6 mm de diámetro, en ovejas Pelibuey adultas con condición corporal alta, con amamantamiento continuo o en ovejas no gestantes y sin crías. La respuesta al estro, el inicio del estro y en el porcentaje de ovulación, no se afectaron por la condición corporal, la nutrición focalizada en las ovejas Pelibuey con diferente estado fisiológico. La nutrición focalizada favorece el peso de las ovejas Pelibuey con condición corporal alta con diferente estado fisiológico.

## VII. LITERATURA CITADA

- Abecia, J.A., F. Forcada, and A. González-Bulnes. 2011. Pharmaceutical control of reproduction in sheep and goats. *Veterinary Clinics Food Animal Practice*. 27: 67-79.
- Abecia, J.A., F. Forcada, and A. González-Bulnes. 2012. Hormonal control of reproduction in small ruminants. *Animal Reproduction Science*. 130: 173-179.
- Acritopoulou, S., and W. Haresign. 1980. Response of ewes to a single injection of an analogue of PGF-2 alpha given at different stages of the oestrous cycle. *Journal Reproduction and Fertility*. 58: 219-21.
- Alcaraz-Romero, R.A., J.A. Quintal-Franco, D. Hernández-Sánchez, T. Sánchez-Torres, E. Villagómez-Amezcuca, J. Ramón-Ugalde, J. Baeza-Rodríguez, R. Bores Quintero, and J.G. Cantón Castillo. 2012. Ovarian activity in F1 prepubertal ewe lambs under tropical conditions. *Livestock Science*. 143: 24-28.
- Al-Maully, N.Z.N, M.J. Bryant, and F.J. Cunningham. 1991. Effect of the introduction of rams on the pulsatile release of luteinizing hormone and the onset of reproductive activity in ewe lambs. *Animal Production*. 53: 209-214.
- Álvarez, L., and S. Andrade. 2008. The male effect reduces the age to first estrus and to ovulation in Pelibuey ewe lambs. *Archivos de Zootecnia* 57 (217): 91-94.
- Amstalden, M., B.R.C. Alves, S. Liu, R.C. Cardoso, and G.L. Williams. 2011. Neuroendocrine pathways mediating nutritional acceleration of puberty: insights from ruminant models. *Frontiers in Endocrinology*. 109 (2): 1-7. DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fendo.2011.00109>
- Annett, R.W., and A.F. Carson. 2006. Effects of plane of nutrition during the first month of pregnancy on conception rate, foetal development and lamb output of mature and adolescent ewes. *Animal Science*. 82: 947-954.
- Araujo, R.C., A.V. Pires, I. Susin, C.Q. Mendes, G.H. Rodrigues, F.S. Urano, M.F. Ribeiro, C.A. Oliveira, P. Viau, and M.L. Day. 2009. Postpartum ovarian activity of Santa Inês lactating ewes fed diets containing soybean hulls as a replacement for coastcross (*Cynodon* sp.) hay. *Small Ruminant Research*. 81: 126-131.
- Arroyo, J., H. Magaña-Sevilla, and M.A. Camacho-Escobar. 2009. Regulación neuroendócrina del anestro posparto en la oveja. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 10: 301-312.
- Arteaga, C.M.L.; M. Martínez-Gómez, R. Guevara-Guzmán, y R. Hudson. 2007. Comunicación química en mamíferos domésticos. *Veterinaria México*. 38: 105-123.
- Atkinson, S., and N.R. Adams. 1988. Adrenal glands alter the concentration of oestradiol-17 beta and its receptor in the uterus of ovariectomized ewes. *Journal Endocrinology*. 118 (3): 375-380.
- Avendaño-Reyes, L., F.D. Álvarez-Valenzuela, L. Molina-Ramírez, R. Rangel-Santos, A. Correa-Calderón, J. Rodríguez-García, M. Cruz-Villegas, P.H. Robinson, and T.R. Famula. 2007. Reproduction performance of Pelibuey ewes in response to estrus synchronization and artificial insemination in Northwestern Mexico. *Journal of Animal Veterinary Advances*. 6 (6): 807-8-12.
- Balázs, R., R.J. Bridges, and C.W. Cotman. 2006. Excitatory amino acid transmission in health and disease. Oxford University Press Inc. NY, USA.
- Bari, F., M. Khalid, W. Haresign, A. Murray, and B. Merrel. 2003. Factors affecting the survival of sheep embryos after transfer within a MOET program. *Theriogenology*. 59: 1265-1275.
- Barrell, G.K., M.S. Moenter, A. Caraty, and J.F. Karsch. 1992. Seasonal changes of gonadotropin-releasing hormone secretion in the ewe. *Biology of Reproduction*. 46: 1130-1135.
- Barrett, D.M.W., P.M. Bartlewski, S.J. Cook, and N.C. Rawlings. 2002. Ultrasound and endocrine evaluation of the ovarian response to PGF $2\alpha$  given at different stages of the luteal phase in ewes. *Theriogenology*. 58: 1409-1424.
- Bartlewski, P.M., A.P. Beard, and N.C. Rawlings. 1999. An ultrasonographic study of luteal function in breeds of sheep with different ovulation rates. *Theriogenology*. 52: 115-130.
- Bartlewski, P.M., A.P. Beard, C.L. Chapman, M.L. Nelson, B. Palmer, J. Aravindakshan, S.J. Cook, and N.C. Rawlings. 2001. Ovarian responses in GnRH-treated anestrus ewes: follicular and endocrine correlates with luteal outcome. *Reproduction Fertility and Development*. 13: 133-142.
- Bartlewski, P.M., A.P. Beard, S.J. Cook, and N.C. Rawling. 2002. Ovarian activity during sexual maturation and following introduction of the ram to ewe lambs. *Small Ruminant Research* 43: 37-44.

- Bartlewski, P.M., T.E. Baby, and J.L. Giffin. 2011. Reproductive cycles in sheep. *Animal Reproduction Science*. 124: 259-268.
- Boland, M.P., P. Lonergan, and D. O'Callaghan. 2001. Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, and oocyte and embryo development. *Theriogenology*. 55: 1323-1340.
- Boni, R., R. Santillo, G. Macchia, P. Spinelli, G. Ferrandino, and A. D'Aniello. 2006. D-Aspartate and reproductive activity in sheep. *Theriogenology*. 65: 1265–1278.
- Brann, A.W., and V.B. Mahesh. 1994. Excitatory amino acids: Function and significance in reproduction and neuroendocrine regulation. *Frontiers in Neuroendocrinology*. 15: 3-49.
- Brann, D.W., and V.B. Mahesh. 1995. Glutamate: a major neuroendocrine excitatory signal mediating steroid effects on gonadotropin secretion. *Journal Steroid Biochemical Molecular Biology*. 53 (1-6): 325-329.
- Brann, D.W., and V.B. Mahesh. 1997. Excitatory amino acids: Evidence for a role in the control of reproduction and anterior pituitary hormone secretion. *Endocrine Reviews*. 18 (5): 678-700.
- Bulbarela-García, G., A. Pro-Martínez, C. M. Becerril-Pérez, P. Díaz-Rivera, A. Rosendo-Ponce y J. Gallegos-Sánchez. 2009. Efecto de L-arginina y aceite de pescado en el comportamiento reproductivo de ovejas de pelo sincronizadas con un progestágeno. *Agrociencia* (43): 371-377.
- Caldani, M., M. Batailler, J.C. Thiéry, and M.P. Dubois. 1988. LH-RH immunoreactive structures in the sheep brain. *Histochemistry*. 89:129-139.
- Camacho-Ronquillo, J.C., J.C. Rodríguez-Castillo, J.E. Hernández-Hernández, A. Pro-Martínez, C.M. Becerril-Pérez y J. Gallegos-Sánchez. 2008. Características reproductivas de ovejas Pelibuey sincronizadas e inducidas a la pubertad. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*. 16: 18-24.
- Caraty, A., and D.C. Skinner. 1999. Progesterone priming is essential for the full expression of the positive feedback effect of estradiol in inducing the preovulatory gonadotropin-releasing hormone surge in the ewe. *Endocrinology*. 140: 165-170.
- Caraty, A., B. Delaleu, D. Chesneau, and C. Fabre-Nys. 2002. Sequential role of E<sub>2</sub> and GnRH for the expression of estrous behavior in ewes. *Endocrinology* 143: 139–145.
- Castillo-Maldonado, P.P., H. Vaquera-Huerta, L. Tarango-Arambula, P. Pérez-Hernández, A. Herrera-Corredor, y J. Gallegos-Sánchez. 2013. Restablecimiento de la actividad reproductiva posparto en ovejas de pelo. *Archivos de Zootecnia*. 62 (239): 419-428.
- Chanvallon, A., L. Sagot, E. Pottier, N. Debus, D. François, T. Fassier, R.J. Scaramuzzi, and C. Fabre-Nys. 2011. New insights into the influence of breed and time of the year on the response of ewes to the 'ram effect'. *Animal*. 5 (10): 1594-1604.
- Clark, R. T. 1934. Studies of reproduction in sheep. I. The ovulation rate of the ewe as affected by the plane of nutrition. *Anatomical Record*. 60: 125-134.
- Contreras-Solís, I. B. Vásquez, T. Díaz, C. Letelier, A. López-Sebastian, and A. González-Bulnes. 2009. Ovarian and endocrine responses in tropical sheep treated with reduced doses of cloprostenol. *Animal Reproduction Science*. 114: 384-392.
- Cortez-Romero, C., C.A. Herrera-Corredor, J. Gallegos-Sánchez, y J. Salazar-Ortíz. 2011. Manual sobre fisiología de la reproducción, inseminación artificial y ultrasonografía en ovinos. Colegio de Postgraduados. Fundación Grupo Produce, AC. D.F.
- Das, G.K., S.M.K. Naqvi, R. Gulyani, A. Joshi, and J.P. Mittal. 1999. Effect of two protocols of PGF<sub>2a</sub> treatment for synchronization of estrus in a tropical sheep. *Theriogenology*. 51: 283.
- Davis, A.J., I.R. Fleet, F.A. Harrison, and F.M.M. Walker. 1980. Pulmonary metabolism of prostaglandin F<sub>2a</sub> in the conscious non-pregnant ewe and sow. *Journal Physiology*. 301: 86.
- De la Isla-Herrera, G. A. Ayala-Burgos, R. Aké-López, and A. Gonzalez-Bulnes. 2011. Effects of body condition change over oestrus, follicular development and ovulation rate in Pelibuey ewes under tropical conditions. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 14: 337-347.
- Dixon, A.B., M. Knights, J.L. Pate, P.E. Lewis, and E.K. Inskeep. 2006. Reproductive performance of ewes after 5-day treatment with intravaginal inserts containing progesterone in combination with injection of prostaglandin F<sub>2α</sub>. *Reproduction Domestic Animal*. 41: 142-148.
- Dixon, A.B., M. Knights, J.L. Winkler, D.J. Marsh, J.L. Pate, M.E. Wilson, R.A. Dailey, G. Seidel, and E.K. Inskeep. 2007. Patterns of late embryonic and fetal mortality and association with several factors in sheep. *Journal of Animal Science*. 85:1274-1284.
- Dobson, H., C. Fergani, J.E. Routly, and R.F. Smith. 2012. Effects of stress on reproduction in ewes. *Animal Reproduction Science*. 130: 135-140.

- Donovan, A., J.P. Hanrahan, E. Kummen, P. Duff, and M.P. Boland. 2004. Fertility in the ewe following cervical insemination with fresh or frozen–thawed semen at a natural or synchronised oestrus. *Animal Reproduction Science*. 84: 359-368.
- Downing, J.A., and R.J. Scaramuzzi. 1991. Nutrient effects on ovulation rate, ovarian function and the secretion of gonadotrophic and metabolic hormones in sheep. *Journal of Reproduction and Fertility*. 43: 209-227.
- Driancourt, M.A., and R.C. Fry. 1988. Differentiation of ovulatory follicles in sheep. *Journal of Animal Science*. 66 (2): 9-20.
- Ebling, J.F.P. 2005. The neuroendocrine timing of puberty. *Reproduction*. 129: 675-683.
- Estienne, M.J., C.R. Barb, and R.R. Kraeling. 2000. Neuroendocrine regulation of reproduction in male domestic animal species: Role of excitatory amino acids. *Journal of Animal Science*. 77: 1-10.
- Evans, A.C.O. 2003. Ovarian follicle growth and consequences for fertility in sheep. *Animal Reproduction Science*. 78: 289-306.
- Evans, A.C.O., P. Duffy, T.F. Crosby, P.A.R. Hawken, M.P. Boland, and A.P. Beard. 2004. Effect of ram exposure at the end of progestagen treatment on estrus synchronization and fertility during the breeding season in ewes. *Animal Reproduction Science*. 84: 349-358.
- Fabre-Nys, C., and G.B. Martin. 1991. Roles of progesterone and oestradiol in determining the temporal sequence and quantitative expression of sexual receptivity and the preovulatory LH surge in the ewe. *Journal of Endocrinology*. 130: 367-379.
- Fernandez-Abella, D., C. Bonilla-Riera, O. Irabuena, and S. Sterla. 2004. Effects of the oestrus synchronization method and the manipulation of stored semen on sheep fecundity. *Producción Ovina*. 16: 19-31.
- Fierro, S., J. Gil, C. Viñoles, and J. Olivera-Muzante. 2013. The use of prostaglandins in controlling estrous cycle of the ewe: A review. *Theriogenology*. 79: 399-408.
- Fierro, S., J. Olivera-Muzante, J. Gil, and C. Viñoles. 2011. Effects of prostaglandin administration on ovarian follicular dynamics, conception, prolificacy, and fecundity in sheep. *Theriogenology*. 76: 630-639.
- Fletcher, I.C. 1981. Effects of energy and protein intake on ovulation rate associated with the feeding of lupin grain to Merino ewes. *Australian Journal of Agricultural Research*. 32: 79-87.
- Foster, D.L. 1984. Preovulatory gonadotropin surge system of prepubertal female sheep is exquisitely sensitive to the stimulatory feedback action of estradiol. *Endocrinology*. 115: 1186-1189.
- Foster, D.L. and D.H. Olster. 1985. Effect of restricted nutrition on puberty in the lamb: patterns of tonic luteinizing hormone (LH) secretion and competency of the LH surge. *Endocrinology*. 116: 375-381.
- Foster, D.L., and Jackson, L.M. 2006. Puberty in the sheep (Chapter 39). *In: Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*. Neill, J. D. (ed.). Academic Press. Elsevier Inc. USA. pp. 2127-2176.
- Foster, D.L., Karsch, F.J., 1975. Development of the mechanism regulating the preovulatory surge of luteinizing hormone in sheep. *Endocrinology*. 97: 1205-1209.
- Franco-Guerra, F.J., J.E. Hernández, O.A. Villareal-Espinobarros, C. Quiroz-Ruiz, J. Gallegos-Sánchez, y J.C. Camacho-Ronquillo. 2012. Nota técnica: Variables productivas de corderos y ovejas Pelibuey inducidas al estro con hormonas exógenas y con diferentes tipos de amamantamiento. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*. 20 (1-2): 47-53.
- Gallegos-Sánchez, J., B. Delaleu, A. Caraty, B. Malpoux, and J.C. Thiéry. 1997. Estradiol acts locally within the retrochiasmatic area to inhibit pulsatile luteinizing-hormone release in the female sheep during anestrus. *Biology of Reproduction*. 56: 1544-1549.
- García, E. 2004. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana) 5ª Ed. Instituto de Geografía. UNAM. México.
- Gelez, H., and C. Fabrè-Nys. 2004. The "male effect" in sheep and goats: a review of the respective roles of the two olfactory systems. *Hormones and Behavior* 46: 257-271.
- Godfrey, R.W., J.R. Collins, and M.L. Gray. 1998. Evaluation of sexual behavior of hair sheep rams in a tropical environment. *Journal of Animal Science*. 76: 714–717.
- Gonzalez-Bulnes, A., A. Veiga-Lopez, P. Garcia, R.M. García-García, C. Ariznavarreta, M.A. Sanchez, J.A.F. Tresguerres, M.J. Cocero, and J.M. Flores. 2005. Effects of progestogens and prostaglandin analogues on ovarian function and embryo viability in sheep. *Theriogenology*. 63: 2523–2534.

- 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*. Neill, J.D. (ed.). Elsevier: Amsterdam. pp. 2389-2448.
- Gordon, K., M.B. Renfree, R.V. Short, and I.J. Clarke. 1987. Hypothalamo-pituitary portal blood concentration of endorphin during suckling in the ewe. *Journal Reproduction and Fertility*. 79: 397-408.
- Güngör, Ö., N. Özyurtlu, Ş.M. Pancarci, M.Kaya, A.K. Zonturlu, H. Oral, Y. Çetin, and B. Polat. 2009. Estrous synchronization with used CIDR-G devices in ewes during non-breeding season. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 15 (5): 779-783.
- Hamra, A.H., F.M.A. Al-Dabbas, and F.T. Awawdeh. 2003. Effect of arginine supplementation on puberty and some reproductive traits in female Awassi sheep. *Journal of Agricultural Investment*. 20: 82-85.
- Hashem, N.M., S.Z. El-Zarkouny, T.A. Taha, and Z.R. Abo-Elezz. 2011. Effect of season, month of parturition and lactation on estrus behavior and ovarian activity in Barki x Rahmani crossbred ewes under subtropical conditions. *Theriogenology*. 75: 1327-1335.
- Hawken, P.A., A.P. Beard, T. Esmaili, H. Kadokawa, A.C. Evans, D. Blache, and G.B. Martin. 2007. The introduction of rams induces an increase in pulsatile LH secretion in cyclic ewes during the breeding season. *Theriogenology*. 68: 56-66.
- Hawken, P.A.R. and G.B. Martin. 2012. Sociosexual stimuli and gonadotropin-releasing hormone/luteinizing hormone secretion in sheep and goats. *Domestic Animal Endocrinology*. 43: 85-94.
- Hawken, P.A.R., A.P. Beard, C.M. O'Meara, P. Duffy, K.M. Quinn, T.F. Crosby, M.P. Boland, and A.C.O. Evans. 2005. The effects of ram exposure during progestogen oestrus synchronisation and time of ram introduction post progestagen withdrawal on fertility in ewes. *Theriogenology*. 63: 860-871.
- Hernández, F., L. Elvira, J.V. González-Martin, A. González-Bulnes, and S. Astiz. 2011. Influence of age at first lambing on reproductive and productive performance of Lacaune dairy sheep under an intensive management system. *Journal of Dairy Research*. 78: 160-167.
- Herrera, J., H. Jordán, and A.F. Senra. 2010. Aspectos del manejo y alimentación de la reproductora ovina Pelibuey en Cuba. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*. 44 (3): 211-219.
- Herrera-Camacho, J., J.R. Aké-López, J.C. Ku-Vera, G.L. Williams, and J.A. Quintal-Franco. 2008. Ovulatory response and embryo quality and development in superovulated Pelibuey ewes supplemented with polyunsaturated fatty acids in the diet. *Técnica Pecuaria Mexicana*. 46 (2): 107-117.
- Herrera-Corredor, A., J. Salazar-Ortíz, G. Morales-Terán, A. Pro-Martínez, and J. Gallegos-Sánchez. 2010. Efecto del aceite de soya en la dieta y la condición corporal sobre la población folicular y tasa ovulatoria de ovejas Pelibuey en dos épocas reproductivas. *Universidad y Ciencia*. 26 (2): 205-210.
- Howland, B.E. R.L., Kirkpatrick, A.L. Pope, and L.E. Casida. 1966. Pituitary and ovarian function in ewes fed on two nutritional levels. *Journal of Animal Science*. 25: 716-721.
- Huchkowsky, S.L., P.M. Bartlewski, and N.C. Rawlings. 2002. Ovarian follicular development and endocrine function in non-prolific Western White Face ewes with early or late onset of seasonal anestrus. *Small Ruminant Research*. 46: 191-199.
- Husein, M.Q. and M.M. Ababneh. 2008. A new strategy for superior reproductive performance of ewes bred out-of-season utilizing progestagen supplement prior to withdrawal of intravaginal pessaries. *Theriogenology*. 69: 376-383.
- Jackson, C.G., T.L. Neville, V.R.G. Mercadante, K.M. Waters, G.C. Lamb, C.R. Dahlen, and R.R. Redden. 2014. Efficacy of various five-day estrous synchronization protocols in sheep. *Small Ruminant Research*. 120: 100-107.
- Jordan, K.M., E.K. Inskeep, and M. Knights. 2009. Use of gonadotropin releasing hormone to improve reproductive responses of ewes introduced to rams during seasonal anoestrus. *Animal Reproduction Science*. 116: 254-264.
- Kara, Ç., A. Orman, E. Topal, and E. Çarkungöz. 2010. Effects of Supplementary Nutrition in Awassi Ewes on behaviors and reproductive traits. *Journal of Biological and Environmental Sciences*. 4 (10): 15-21.

- Karaca, F., M.B. Ataman, and K.Coyan. 2009. Synchronization of estrus with short- and long-term progestagen treatments and the use of GnRH prior to short-term progestagen treatment in ewes. *Small Ruminant Research*. 81: 185-188.
- Karsch, F.J., G.E. Dahl, N.P. Evans, J.M. Manning, K.M. Mayfield, S.M. Moenter, and D.L. Foster. 1993. Seasonal changes in gonadotropin-releasing hormone secretion in the ewe: Alteration in response to the negative feedback action of estradiol. *Biology of Reproduction*. 49: 1377-1383.
- Karsch, F.J., R.L. Goodman, and S.L. Legan. 1980. Feedback basis of seasonal breeding test of a hypothesis. *Journal Reproduction and Fertility*. 58: 521-535.
- Keisler, D.H., 2007. Sheep breeding strategies. *In: Youngquist, R.S., Threlfall, W.R. (eds.), Current Therapy in Large Animal. Theriogenology*. WB Saunders Co., Pennsylvania, pp. 649–661.
- Kenji, I., N. Kobayashi, H. Kohno, H., A. Miyamoto, and Y. Hukui. 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.
- Kenyon, P.R., A.N. Thompson, and S.T. Morris. 2014. Breeding ewe lambs successfully to improve lifetime performance. *Small Ruminant Research*. 118: 2-15.
- Khalifa, E.I., M.E. Ahmed, Y.H. Hafez, O.A. El-Zolaky, K.M. Bahera, and A.A. Abido. 2013. *Annals of Agricultural Science*. 58 (2): 163-172.
- Knight, T. W. 1983. Ram induced stimulation of ovarian and oestrous activity in anoestrous ewes - a review. *Proceedings of the New Zeland Society of Animal Production*. 43: 7-11.
- Knights, M., Q.S. Baptiste, and P.E. Lewis. 2002. Ability of ram introduction to induce LH secretion, estrus and ovulation in fall-born ewe lambs during anestrus. *Animal Reproduction Science*. 69: 199-209.
- Knights, M., R. Ramgattie, N. Siew, D. Singh-Knights, and G. Bourne. 2011. Effectiveness of a short-term treatment with progesterone injections on synchrony of lambing and fertility in tropical hair sheep. *Animal Reproduction Science*. 126: 70–75.
- Knights, M., T. Hoehn, P.E. Lewis, and E.K. Inskeep. 2001. Effectiveness of intravaginal progesterone inserts and FSH for inducing synchronized estrus and increasing lambing rate in anestrus ewes. *Journal of Animal Science*. 79: 1120-1131.
- Kumar, D., and S.M.K. Naqvi. 2014. Effect of time and depth of insemination on fertility of Bharat Merino sheep inseminated trans-cervical with frozen-thawed semen. *Journal of Animal Science and Technology*. 56: 8. DOI: <http://www.janimscitechnol.com/content/56/1/8>
- Letelier, C.A., I. Contreras-Solis, R.A. García-Fernández, M.A. Sánchez, P. García-Palencia, B. Sánchez, C. Ariznavarreta, J.A.F. Tresguerres, J.M. Flores, and A. Gonzalez-Bulnes. 2011. Effects of oestrus induction with progestagens or prostaglandin analogues on ovarian and pituitary function in sheep. *Animal Reproduction Science*. 126: 61-69.
- Leury, B.J.; P.J. Murray, and J.B. Rowe. 1990. Effect of nutrition on the response in ovulation rate in Merino ewes following short-term lupin supplementation and insulin administration. *Australian Journal of Agricultural Research*. 41: 751-759.
- Lindsay, D.R. 1976. The usefulness to the animal producer of research findings in nutrition on reproduction. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production*. 9: 217-224.
- Littell, R.C., P.R. Henry, and C.B. Ammerman. 1998. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *Journal Animal Science*. 76: 1216-1231.
- Lovenverg, W.M. 1986. Biochemical regulation of brain function. *Nutrition Reviews*. Supp. May: 6-11.
- Lucidi, P., B. Barboni, and M. Mattioli. 2001. Ram-induced ovulation to improve artificial insemination efficiency with frozen semen in sheep. *Theriogenology*. 55: 1797-1805.
- Macedo, R., y Y. Castellanos. 2004. Rentabilidad de un sistema intensivo de producción ovino en el trópico. *Avances en Investigación Agropecuaria*. 8 (3): 1-9.
- Mahesh, V.B. y D.W. Braan. 2005. Regulatory role of excitatory amino acids in reproduction. *Endocrine*. 28: 271-280.
- Malpaux, B., C. Vigié, D.C. Skinner, J.C. Thiéry, and P. Chemineau. 1997. Control of the circannual rhythm of reproduction by melatonin in the ewe. *Brain Research Bulletin*. 44 (4): 431–438.
- Manzano, E. C., García, M. R., Miranda, M. G., León, A. E. y Fonseca, J. 1999. Relación entre peso vivo, condición corporal e indicadores bioquímicos de la nutrición de ovejas vacías y secas de la raza pelibuey. *Archivos de Zootecnia*. 48: 223-226.

- Martemucci, G., and A.G. D'Alessandro. 2011. Synchronization of oestrus and ovulation by short time combined FGA, PGF2, GnRH, eCG treatments for natural service or AI fixed-time. *Animal Reproduction Science* 123: 32–39.
- Martin, G.B., 2009. The 'Clean, Green and Ethical' Concept in Animal Production. *Agrociencia*. 13 (3): 1-7.
- Martin, G.B., and H. Kadokawa. 2006. «Clean, green and ethical» animal production. Case study: reproductive efficiency in small ruminants. *Journal Reproduction and Development*. 52: 145-152.
- Martin, G.B., and Y. Cognie. 1984. Induction of LH secretion and ovulation in anoestrous Romanov ewes by the introduction of rams. (Abstract). *Applied Animal Behaviour Science*. 13 (1-2): 174.
- Martin, G.B., C.M. Oldham, Y. Cognie, and D.T. Pearce. 1986. The physiological responses of anovulatory ewes to the introduction of rams-A review. *Livestock Production Science*. 15: 219-47.
- Martin, G.B., J.T.B. Milton, R.H. Davidson, G.E. Banchero, D.R. Lindsay, and D. Blache. 2004. Natural methods of increasing reproductive efficiency in sheep and goats. *Animal Reproduction Science*. 82-83: 231-46.
- Martin, G.B., R.J. Scaramuzzi, and D.R. Lindsay. 1983. Effect of introduction of rams during anoestrous season on the pulsatile secretion of LH in ovariectomized ewes. *Journal Reproduction and Fertility*. 67: 47-55.
- Martínez-Rojero, R.D., C. Cruz-Lazo, I. Rubio-Gutiérrez, and L.A. Zarco-Quintero. 1998. Influencia del carnero sobre la ocurrencia de estros en la oveja Pelibuey. *Veterinaria México*. 29: 111-115.
- Mattioli, M., F. Conte, G. Giovanna, and E. Seren. 1986. Effect of naloxone on plasma concentration of prolactin and LH in lactating sows. *Journal Reproduction and Fertility*. 76: 167-173.
- McKelvey, W.A.C., J.J. Robinson, and R.P. Aitken. 1985. The evaluation of a laparoscopic insemination technique in ewes. *Theriogenology*. 24 (5): 519-535.
- McLaren, D.G., J. Novakofski, D.F. Parrett, L.L. Lo, S.D. Singh, K.R. Nuemman, and F.K. Mckeith. 1991. A study of operator effects on ultrasonic measures on fat depth and longissimus muscle area in cattle, sheep and pigs. *Journal of Animal Science*. 69: 54-66.
- Meilán, J. and R. Ungerfeld. 2014. Does introduction of rams during the late luteal phase promote the estrus response in cyclic ewes? Short communication. *Small Ruminant Research*. 120: 116-120.
- Mellisho, S.E., H.R. Pinazo, F.L. Chauca, V.P. Cabrera, y P.V. Rivas. 2006. Inseminación intrauterina vía laparoscópica de ovejas Black Belly con semen congelado. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 17 (2): 131-136.
- Memon, G.N. B.M. Patel, and N.C. Buch. 1971. Effect of dietary energy from hydrogenated vegetable oil and starch on ovarian and anterior pituitary gland response in ewes. *The Indian Journal of Animal Science*. 41: 685-689.
- Menchaca, A., and E. Rubianes. 2004. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reproduction Fertility and Development*. 16: 403-13.
- Mirzaei, A., M. Mohebbi-Fani, S. Nazifia, and M. Aghamiria. 2011. Effect of GnRH administration, combined with the ram effect, on the occurrence of ovulation and pregnancy during the transition period from anoestrus in crossbred ewes. *Small Ruminant Research*. 100: 59-62.
- Morales-Terán, G., A. Pro-Martínez, B. Figueroa-Sandoval, C. Sánchez-Real, y J. Gallegos-Sánchez. 2004. Amamantamiento continuo o restringido y su relación con la duración del anestro posparto en ovejas Pelibuey. *Agrociencia*. 38: 165-171.
- Morales-Terán, G., C.A. Herrera-Corredor, P. Pérez-Hernández, J. Salazar-Ortiz, and J. Gallegos-Sánchez. 2011. Influence of controlled suckling and the male effect on the resumption of postpartum ovarian activity in Pelibuey sheep. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 13 (3): 493-500.
- Morley, F.W.H., D.H. White, P.A. Kenney, and I.F. Davis. 1978. Predicting ovulation rate from live weight in ewes. *Agricultural Systems*. 3: 27-45.
- Naqvi, S.M.K., V.P. Maurya, R. Gulyani, A. Joshi, and J.P. Mittal. 2004. The effect of thermal stress on superovulatory response and embryo production in Bharat Merino ewes. *Small Ruminant Research*. 55: 57-63.
- Nett, T.M., D. Cermak, T. Broden, J. Manns, and G.D. Niswender. 1988. Pituitary receptors for GnRH and estradiol, and pituitary content of gonadotropins in beef cows. II. Changes during the postpartum period. *Domestic Animal Endocrinology*. 5: 81.
- Nowak, R., Porter, R.H., Levy, F., Orgeur, P., Schaal, B. 2000. Role of mother-young interactions in the survival of offspring in domestic mammals. *Reviews Reproduction*. 5: 153-163.

- O'Doherty, J.V., and T.F. Crosby. 1990. The effect of progestogen type, PMSG dosage and time of ram introduction on reproductive performance in ewe lambs. *Theriogenology*. 33: 1279-1286.
- Oldham, C.M., and D.R. Lindsay. 1980. Laparoscopy in the ewe: A photographic record of the ovarian activity of ewes experiencing normal or abnormal oestrous cycles. *Animal Reproduction Science*. 3: 119-124.
- Oldham, C.M., and G.B. Martin. 1978. Stimulation of seasonally anovular ewes by rams. II. Premature regression of ram-induced corpora lutea. *Animal Reproduction Science*. 1: 291-295.
- Olivera-Muzante, J., J. Gil, C. Viñoles, and S. Fierro. 2013. Reproductive outcome with GnRH inclusion at 24 or 36 h following a prostaglandin F2-based protocol for timed AI in ewes. *Animal Reproduction Science*. 138: 175-179.
- Olivera-Muzante, J., J. Gil, S. Fierro, A. Menchaca, and E. Rubianes. 2011. Alternatives to improve a prostaglandin-based protocol for timed artificial insemination in sheep. *Theriogenology*. 76: 1501-1507.
- Pearce, G.P., and C.M. Oldham. 1988. Importance of non-olfactory ram stimuli in mediating ram-induced ovulation in the ewe. *Journal Reproduction and Fertility*. 84: 333-339.
- Pellicer-Rubio, M.T., J.L. Touzúa, G. Baril and B. Malpoux. 2013. The luteal outcome of anoestrus ewes induced to ovulate by the male effect is not related to the population of ovarian antral follicles before male exposure. *Animal Reproduction Science* 137: 23-30.
- Perera-Marín, G., C. Murcia, S. Rojas, J. Hernández-Cerón, and E. González-Padilla. 2005. Pattern of circulating luteinizing hormone isoforms during the estrous and luteal phases in Holstein heifers. *Animal Reproduction Science*. 86: 53-69.
- Pérez-Hernández, P., C.M. Becerril-Pérez, C. Lamothe-Zavaletta, G. Torres-Hernández, S. López-Ortiz, S., and J. Gallegos-Sánchez. 2006. Efecto del amamantamiento retrasado en la actividad posparto de las vacas y en los becerros de doble propósito. *Interciencia*. 31: 748-752.
- Pérez-Hernández, P., J. Vilaboa-Arroniz, H. Chalate-Molina, B. Candelaria-Martínez, P. Díaz-Rivera, y S. López-Ortiz. 2011. Análisis descriptivo de los sistemas de producción con ovinos en el estado de Veracruz, México. *Revista Científica FCV-LUZ*. 4 (21): 327-334.
- Pérez-Hernández, P., V.M. Hernández-Valdez, B. Figueroa-Sandoval., G. Torres-Hernández, P. Díaz-Rivera, y J. Gallegos-Sánchez. 2009. Efecto del tipo de amamantamiento en la actividad ovárica posparto de ovejas Pelibuey y tasas de crecimiento de corderos en los primeros 90 días de edad. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias*. 19: 343-349.
- Perón, N. 2010. Características reproductivas del ovino Pelibuey en cuba. *Revisión bibliográfica. Ciencia y Tecnología Ganadera*. 4: 1-22.
- Pinna, A.E., F.Z. Bandao, A.S. Cavalcanti, A.M. Borges, J.M.G. Souza, and J.F. Fonseca. 2012. Reproductive parameters of Santa Ines ewes submitted to short-term treatment with re-used progesterone devices. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 64 (2): 333-340.
- Ramón-Ugalde, J.P. y J.R. Sanginés-García. 2002. Respuesta al efecto macho de primaras Pelibuey en condiciones de pastoreo y suplementación en trópico. *Técnica Pecuaria Mexicana*. 40 (3): 309-317.
- Recabarren, S. E., A. Jofré, A. Lobos, P. Orellana, and J. Parilo. 1996. Effect of arginine and ornithine infusions on luteinizing hormone secretion in prepubertal ewes. *Journal of Animal Science*. 74: 162-166.
- Reyna, J., P.C. Thomson, G. Evans, and W.M. Maxwell. 2007. Synchrony of ovulation and follicular dynamics in merino ewes treated with GnRH in the breeding and non-breeding seasons. *Reproduction Domestic Animal*. 42: 410-417.
- Robinson, J. 2006. Prenatal programming of the female reproductive neuroendocrine system by androgens. *Reproduction*. 132: 539-547.
- Rodríguez, O.L., M. Heredia, F. Quintal, y L. Carrillo. 1986. Manejo de la lactación para incrementar la eficiencia reproductiva en ovejas Pelibuey. I. Presencia del cordero en destetes temporales. *Técnica Pecuaria Mexicana*. 51: 104-110.
- Rodríguez-Castillo, J. C., A. Pro-Martínez, C.M. Becerril-Pérez, B. Figueroa-Sandoval, y J. Gallegos-Sánchez. 2004. Respuesta reproductiva y tasa ovulatoria en cabras Boer x Nubia en diferentes épocas del año. *Interciencia*. 29 (8): 468-472.
- Rodríguez-Iglesias, R.M., N.H. Ciccioli, J. Ferrería, D.A. Pevsner, C.A. Rosas, M.M. Rodríguez, and J.R. Pedrueza. 2013. Short-lived corpora lutea syndrome in anoestrus ewes following 17β-

- oestradiol or MAP treatments applied before an allogenic sexual stimulation with rams and oestrous ewes. *Animal Reproduction Science*. 136: 268-279.
- Romano, J.E., D. Fernandez-Abella, and N. Villegas. 2001. A note of the effect of continuous ram presence on estrus once, estrus duration and ovulation time in estrus synchronized ewes. *Applied Animal Behaviour Science*. 73: 193-198.
- Rubianes, E., A. Menchaca, and B. Carbajal. 2003. Response of the 1-5 dayaged ovine corpus luteum to prostaglandin F2 $\alpha$ . *Animal Reproduction Science*. 78: 47-55.
- Rubianes, E., Beard, A., Dierschke, D.J., Bartlewski, P., Adams, G.P., Rawlings, N.C., 1997. Endocrine and ultrasound evaluation of the response to PGF2 $\alpha$  and GnRH given at different stages of the luteal phase in cyclic ewes. *Theriogenology* 48: 1093-1104.
- Russel, A.J.F., J.M. Doney, and R.G. Gunn. 1969. Subjective assessment of body fat in live sheep. *Journal of Agricultural Science*. 72: 451-454.
- Salamon, S. and M. Maxwell. 2000. Storage of ram semen. Review. *Animal Reproduction Science* 62 (1-3): 77-111.
- Salinas, F.M. 2008. Modelos de Regresión VI. Análisis de supervivencia. *Ciencia y Trabajo*. 28: 75-78.
- Salloum, B.A., and R. Claus. 2005. Interaction between lactation, photoperiodism and male effect in German Merino ewes. *Theriogenology*. 63: 2181-2193.
- SAS Institute Inc. 2012. SAS user's Guide Statistics, version 9.4 (TS1MO). Cary, N.C. USA.
- Scaramuzzi, R.J., and G.B. Martin. 2008. The importance of interactions among nutrition, seasonality and socio-sexual factors in the development of hormone-free methods for controlling fertility. *Reproduction Domestic Animal*. 43 (2): 129-136.
- Scaramuzzi, R.J., B.K. Campbell, J.A. Downing, N.R. Kendall, M. Khalid, M. Muñoz-Gutiérrez, and A. Somchit. 2006. A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. *Reproduction Nutrition and Development*. 46 (4): 339-354.
- Scaramuzzi, R.J., D.T. Baird, B.K. Campbell, M.A. Driancourt, J. Dupont, J.E. Fortune, R.B. Gilchrist, G.B. Martin, K.P. McNatty, A.S. McNeilly, P. Monget, D. Monniaux, C. Viñoles, and R. Webb. 2011. Regulation of folliculogenesis and the determination of ovulation rate in ruminants. *Reproduction Fertility and Development*. 23: 444-467.
- Scaramuzzi, R.J., L. Oujagir, J.B. Menassol, S. Freret, A. Piezel, H.M. Brown, J. Cognié, and C. Fabre-Nys. 2013. The pattern of LH secretion and the ovarian response to the 'ram effect' in the anoestrous ewe is influenced by body condition but not by short-term nutritional supplementation. *Reproduction Fertility and Development*. 26 (8): 1154-1165.
- Schirar, A., Y. Cognie, F. Louault, N. Poulin, C. Meusnier, M. C. Levasseur and J. Martinet. 1990. Resumption of gonadotropin release during the postpartum period in suckling and non-suckling ewes. *Journal Reproduction and Fertility*. 88: 593-604.
- Schneider, J.E. C.M. Klingerman, and A. Abdulhay. 2012. Sense and nonsense in metabolic control of reproduction. *Frontiers in Endocrinology*. 26: 3. DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fendo.2012.00026>
- Seekallu, S.V., D.M.W. Barrett, B.M. Toosi, K. Clarke, K.A. Ewen, R. Duggavathi, K.L. Davies, K.M. Pattullo, E.T. Bagu, and N.C. Rawlings. 2010. Pulsatile LH secretion and ovarian follicular wave emergence and growth in anestrous ewes. *Theriogenology*. 74: 912-921.
- Shapiro, S. S., and M.B. Wilk. 1965. An analysis of variance test for normality. *Biometrika*. 52: 591-611.
- Sheep Production Handbook. 2002. American Sheep Industry Association, Inc. 7th Edition. Vol. 7. pp. 732.
- SIACON, Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta. 2014. Programa informático [En línea]. Disponible en <http://www.siap.gob.mx/optestadisticasiacon2012parcialsiacon-zip/> Consultado el 25 de mayo de 2015.
- Silva, B.D.M., R. Sartori, T.A.S.N. Silva, D.M.M. Cardozo, M.A.L. de Oliveira, and J.P. Neves. 2010. Estrus synchronization with prostaglandin F2 $\alpha$  compared to progestogen treatment associated with equine chorionic gonadotropin (eCG) in Santa Inês breed ewes reared in Federal District, Brazil. *Ciência Animal Brasileira, Goiânia*. 11 (2): 417-424.
- Sirjani, M.O., H. Kohram, and M.H. Shahir. 2012. Effects of eCG injection combined with FSH and GnRH treatment on the lambing rate in synchronized Afshari ewes. *Small Ruminant Research*. 106: 59-63.

- Smart, D., I. Singh, R.F. Smith, and H. Dobson. 1994. Opioids and suckling in relation to inhibition of oestradiol-induced LH secretion in postpartum ewes. *Journal of Reproduction and Fertility*. 101: 115-119.
- Somchit, A., B.K. Campbell, M. Khalid, N.R. Kendall, and R.J. Scaramuzzi. 2007. The effect of short-term nutritional supplementation of ewes with lupin grain (*Lupinus luteus*), during the luteal phase of the estrous cycle on the number of ovarian follicles and the concentrations of hormones and glucose in plasma and follicular fluid. *Theriogenology*. 68: 1037-1046.
- Somchit-Assavacheep, A. 2011. Influence of nutritional management on folliculogenesis in ewes. *Thai Journal of Veterinary Medicine*. (Suppl.). 41: 25-29.
- Sosa, C., A. Gonzalez-Bulnes, J.A. Abecia, F. Forcada, and A. Meikle. 2010. Short-term undernutrition affects final development of ovulatory follicles in sheep synchronized for ovulation. *Reproduction in Domestic Animals*. 45: 1033-1038.
- Soto-Belloso, E., G. Soto-Castillo, A. Aguirre-Albornoz, and L. Ramírez. 1992. First service fertility in crossbred cows after the administration of GnRH. *Revista Científica*. 2: 9-11.
- Spencer, T.E., and F.W. Bazer. 2004. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2: 49. DOI: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC471565/>
- Steel, R.G.D., Torrie, J.H, and Dickey, D.A. 1997. Chapter 8. Multiple Comparisons. *Principles and procedures of statistics. A biometrical approach*. 3th ed. McGraw-Hill. Book Co. New York. pp. 178-203.
- Stellflug, J.N., P.G. Hatfield, M.C. Wulster-Radcliffe, and J.W. Walker, 2001. Reproductive performance of ewe lambs from ewes from different selection practices with or without induced estrus. *Animal Reproduction Science*. 66: 185-193.
- Teleni, E., W. R. King, J. B. Rowe, and G. H. McDowell. 1989. Lupins and energy-yielding nutrients in ewes. I. Glucose and acetate biokinetics and metabolic hormones in sheep fed a supplement of lupin grain. *The Australian Journal of Agricultural Research*. 40 (4): 913-924.
- Thiéry, J.C., and G.B. Martin. 1991. Neurophysiological control of the secretion of gonadotrophin-releasing hormone and luteinizing hormone in the sheep. A review. *Reproduction Fertility and Development*. 3: 137-173.
- Thimonier, J., Y. Cognie, N. Lassoued, and G. Khaldi. 2000. L'effet mâle chez les ovins: Une technique actuelle de maîtrise de la reproduction. *INRA Production Animales*. 13 (4): 223-231.
- Titi, H.H., R.T., Kridli, and M.A. Alnimer. 2010. Estrus synchronization in sheep and goats using combinations of GnRH, progestagen and prostaglandin F<sub>2α</sub>. *Reproduction in Domestic Animal*. 45: 594-599.
- Underwood, E.J., F.L. Shier, and N. Davenport. 1944. Studies in sheep husbandry in Western Australia. V. The breeding season of Merino crossbred and British breed ewes in the agricultural districts. *Journal of Department Agricultural of West Australian*. 11: 135-143.
- Ungerfeld, R. 2009. The induction of oestrus in ewes during the non-breeding season using pre-used CIDRs and oestradiol 17β treatment. *Small Ruminant Research*. 84: 129-131.
- Ungerfeld, R. 2011. Combination of the ram effect with PGF<sub>2α</sub> estrus synchronization treatments in ewes during the breeding season. *Animal Reproduction Science*. 124: 65-68.
- Ungerfeld, R., A. Pinczak, M. Forsberg, and E. Rubianes. 1999. Response of Corriedale ewes to the "ram effect" after primings with medroxyprogesterone, fluorogestone, or progesterone in the non-breeding season. *Acta Veterinaria Scandinava*. 40: 299-305.
- Ungerfeld, R., A. Pinczak, M. Forsberg, and E. Rubianes. 1999. Response of Corriedale ewes to the "ram effect" after primings with medroxyprogesterone, fluorogestone, or progesterone in the non-breeding season. *Acta Veterinaria Scandinava*. 40: 299-305.
- Ungerfeld, R., and E. Rubianes. 1999. Effectiveness of short-term progestogen priming for the induction of fertile oestrus with eCG in ewes during late seasonal anoestrus. (Abstract). *Animal Science*. 68 (3): 349-353.
- Ungerfeld, R., and F. Sánchez-Dávila. 2012. Oestrus synchronization in postpartum autumn-lambing ewes: effect of postpartum time, parity, and early weaning. *Spanish Journal of Agricultural Research*. 10: 62-68.
- Ungerfeld, R., D. Gamboa, and L. Álvarez. 2013. Response of ewes primed with new CIDRs, previously used CIDRs, or previously used and autoclaved CIDRs to the ram effect during the non-breeding season. *Animal Reproduction*. 10 (4): 704-707.

- Ungerfeld, R., G. Suárez, B. Carbajal, L. Silva, M. Laca, M. Forsberg, and E. Rubianes. 2003. Medroxyprogesterone primings and response to the ram effect in Corriedale ewes during the non-breeding season. *Theriogenology*. 60: 35-45.
- Urbanski, H.F., M.M. Fahy, M. Daschel, and C. Mashul. 1994. N-methyl-D-aspartate receptor gene expression in the hamster hypothalamus and in immortalized luteinizing hormone-releasing hormone neurons. *Journal Reproduction and Fertility*. 100: 5-9.
- Uribe-Velásquez, L.F., E. Oba, y M.I.L. Souza. 2008. Población folicular y concentraciones plasmáticas de progesterona (P<sub>4</sub>) en ovejas sometidas a diferentes protocolos de sincronización. *Archivos de Medicina Veterinaria*. 40: 83-88.
- Valasi, I., E. Theodosiadou, G.C. Fthenakis, T. Papanikolaou, C. Deligiannis, D. Kalogiannis, S. Chadio, and G.S. Amiridis. 2013. Endocrinological profile and follicular development in cyclic ewes subject to repeated ovum pick-up. *Animal Reproduction Science*. 138: 180-187.
- Valasi, I., S. Chadio, G.C. Fthenakis, and G.S. Amiridis. 2012. Management of pre-pubertal small ruminants: Physiological basis and clinical approach. *Animal Reproduction Science* 130: 126-134.
- Valencia, J., A. Porras, O. Mejía, J.M. Berruecos, J. Trujillo y L. Zarco. 2006. Actividad reproductiva de la oveja Pelibuey durante la época del anestro: Influencia de la presencia del macho. *Revista Científica, FCV-LUZ*. 2: 136-141.
- Van Cleeff, J., F.J. Karsh, and V. Padmanabhan. 1998. Characterization of endocrine events during the periestrus period in sheep after oestrous synchronization with controlled internal drug release (CIDR) device. *Domestic Animal Endocrinology*. 15: 23-24.
- Vilariño, M., E. Rubianes, and A. Menchaca. 2013. Ovarian responses and pregnancy rate with previously used intravaginal progesterone releasing devices for fixed-time artificial insemination in sheep. *Theriogenology*. 79: 206-210.
- Villasmil-Ontiveros, Y., J. Aranguren, N. Madrid-Bury, D. González, J. Rubio, C. González-Stagnaro, M. Portillo, and L. Yañez. 2011. Edad y peso a la pubertad de ovinos cruzados en el estado Zulia, Venezuela. Pubertad en ovinos mestizos tropicales. *Actas Iberoamericanas de Conservación Animal*. 1: 419-422.
- Viñoles, C., A. Meikle, and G.B. Martin. 2009b. Short-term nutritional treatments grazing legumes or feeding concentrates increase prolificacy in Corriedale ewes. *Animal Reproduction Science*. 113: 82-92.
- Viñoles, C., B. Paganoni, J.T.B. Milton, D. Blache, M.A. Blackberry, and G.B. Martin. 2009a. The static and immediate effects of nutrition on ovulation rate in Merino ewes-evaluation with a 'one-wave model' for studying follicular dynamics. *Reproduction Submitted*.
- Walkden-Brown, S.W., B.J. Restall, and Henniawati. 1993. The male effect in the Australian Cashmere goat. 3. Enhancement with buck nutrition and use of oestrus females. *Anim Reprod Sci* 32: 69-84.
- Webb, R., K.J. Woad, and D.G. Armstrong. 2002. Corpus luteum (CL) function: local control mechanisms. *Domestic Animal Endocrinology*. 23: 277-285.
- Wheaton, J.E., K.M. Carlson, H.F. Windels, and L.J. Johnston. 1993. CIDR: a new progesterone-releasing intravaginal device for induction of estrus and cycle control in sheep and goats. *Animal Reproduction Science*. 33: 127-141.
- Wise, M.E. 1990. Gonadotropin releasing hormone secretion during the postpartum anoestrus period of the ewe. *Biology and Reproduction*. 43: 719-725.
- Wroblewski, J.T., W. Blaker, and J.L. Meek. 1985. Ornithine as a precursor of neurotransmitter glutamate: Effect of canaline on ornithine aminotransferase activity and glutamate content in the septum of rat brain. *Brain Research*. 329: 161.
- Wu, G. 2010. Functional amino acids in growth, reproduction, and health. *American Society for Nutrition. Advances in Nutrition*. 1: 31-37.
- Wu, G. 2014. Dietary requirements of synthesizable amino acids by animals: a paradigm shift in protein nutrition. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 5: 34. DOI: <http://www.jasbsci.com/content/5/1/34>
- Yavas, Y., and J.S. Waltoon. 2000. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: a review. *Theriogenology*. 54: 25-55.
- Yildiz, S., M. Uzun, M. Cenesiz, O. Ucar, M. Kaya, and F. Onder. 2002. Effects of sexually activated rams or ewes on pulsatile LH secretion in anoestrous sheep. *Acta Veterinaria Brno*. 71: 297-302.

- Zamorano, P.L., V.B. Mahesh, L. De Sevilla, and D.W. Brann. 1998. Excitatory amino acid receptors and puberty. *Steroids*. 63: 268-270.
- Zavala-Elizarraráz, R. J.R. Ortiz-Ortiz, J.P. Ramón-Ugalde, P.M. Morales, A. Sierra-Vásquez, y J.R. Sanginés-García. 2008. Pubertad en hembras de cinco razas ovinas de pelo en condiciones de trópico seco. *Zootecnia Tropical*. 26 (4): 465-473.

## VIII. ANEXOS

Anexo 1. Fórmula química y principios activos contenidos en la solución del reconstituyente energético Metabolase®.



### **Metabolase®**

Reg. SAGAR Q-7804-024

**COMPOSICION** - Cada 100 ml contienen: Hidrocloruro de l-carnitina 613.3 mg (equivalente a 500 mg de l-carnitina) - Acido tióctico 20 mg - Hidrocloruro de piridoxina 15 mg - Cianocobalamina 3 mg - d,l-Acetilmetionina 2000 mg - l-Arginina 240 mg - Hidrocloruro de l-ornitina 153.2 mg (equivalente a 120 mg de l-ornitina) - l-Citrulina 120 mg - Hidrocloruro de l-lisina 62.5 mg (equivalente a 50 mg de l-lisina) - Glicina 150 mg - Acido aspártico 150 mg - Acido glutámico 150 mg - Fructosa 5000 mg - Sorbitol 8000 mg - Excipientes c.b.p. 100 ml.

**TIEMPO DE ESPERA** - Nulo.

**ALMACENAMIENTO** - Consérvese a temperatura ambiente, lejos de las fuentes de luz y calor.

**CADUCIDAD** - 2 años.



Manufacturado por:  
FATRO

Pharmaceutical Veterinary Industry  
40064 Ozzano Emilia (BO) Italy  
Tel. +39 051 6512711  
Fax +39 051 6512728  
www.fatro.it/com  
E-mail: sdm@fatro.it



Importado y distribuido por:  
Schütze-Segen S.A. de C.V.  
Sanctórum 86-A, Col. Nueva Argentina  
C.P. 11230 México, D.F.  
Tel.: 53 99 17 51 Fax 53 99 37 02  
schutze@prodigynet.mx

## Anexo 2. Análisis proximal del alimento concentrado comercial Borrega Plus®.

### BORREGA PLUS

REG. SAGARPA: NOM-061-200-  
1999-0090

#### ANÁLISIS GARANTIZADO

Proteína cruda min. 15.0%	Cenizas max. 7.5%
Grasa Cruda min. 3.0%	Humedad max. 12.0%
Fibra Cruda max. 10.0%	E. N. L. Al menos 52.0%

#### RECOMENDACIONES DE USO:

Este alimento se recomienda principalmente para ser administrado a las hembras que conforman el rebaño y su asignación va a ser en base al estado fisiológico o reproductivo en que se encuentre el animal:

**BORREGAS VACIAS:** En este grupo se encuentran todas aquellas hembras que no han sido cubiertas por el macho; Se deben alimentar principalmente con forraje. Es importante cuidar la condición corporal, por que aunque se dice que la reproducción de los borregos es estacional, siempre que mantenga una condición adecuada, estará en mayores posibilidades de ciclar más rápido.



**BORREGAS EN EPOCA DE EMPADRE:** En esta etapa se recomienda suministrar BORREGA PLUS a razón de

0.5 Kg desde 15 días antes y hasta 15 días después del empadre ya que con este manejo se cumple el objetivo de mejorar la condición corporal, asegurar el empadre y mejorar la prolificidad de la Hembra. Es importante proporcionar minerales para ganado reproductor a libre acceso.

**BORREGAS AL INICIO DE LA GESTACIÓN:** Esta etapa comprende los primeros 100 días de gestación, las borregas pueden alimentarse exclusivamente de forraje sin afectar el desarrollo del producto que esta gestando. Además suministrar minerales para ganado reproductor.

**BORREGAS AL FINAL DE LA GESTACIÓN:** Esta etapa es de gran importancia ya que a partir del día 100 de gestación y hasta el parto, el forraje no cubre los requerimientos nutricionales del animal, por lo que se debe suministrar 0.5 Kg de BORREGA PLUS, ya que durante este tiempo el feto incrementa su tamaño de manera acelerada y por lo tanto la demanda de nutrientes se incrementa.



**BORREGAS AL INICIO DE LA LACTANCIA:** Durante el primer mes de la lactancia se debe proporcionar 0.5(1 cría)– 1.0 (2 crías) Kg. de BORREGA PLUS por día más el forraje que se ha venido proporcionando, es importante mantener la mezcla de minerales para reproductores a libre acceso.

Anexo 3. Cantidad de folículos de 2 a 3 mm de diámetro en ovejas Pelibuey prepúberes.

	Factor A:	Reconstituyente energético (REC)		Efecto
Factor B:		a <sub>1</sub> : Sin	a <sub>2</sub> : Con	
Efecto	b <sub>1</sub> : Sin	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> : 0.6	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub> : 1.2	Antes
	b <sub>2</sub> : Con	a <sub>1</sub> b <sub>2</sub> : 1.6	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub> : 1.8	
Macho (EM)	b <sub>1</sub> : Sin	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> : 0.0*	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub> : 0.2**	Después
	b <sub>2</sub> : Con	a <sub>1</sub> b <sub>2</sub> : 0.8**	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub> : 0.7*	

\* $p=0.01$ ; \*\* $p=0.0001$ .

Anexo 4. Cantidad de folículos de 4 a 5 mm de diámetro en ovejas Pelibuey prepúberes.

	Factor A:	Reconstituyente energético (REC)		Efecto
Factor B:		a <sub>1</sub> : Sin	a <sub>2</sub> : Con	
Efecto	b <sub>1</sub> : Sin	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> : 0.3	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub> : 0.3	Antes
	b <sub>2</sub> : Con	a <sub>1</sub> b <sub>2</sub> : 0.0	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub> : 0.0	
Macho (EM)	b <sub>1</sub> : Sin	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> : 1.5*	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub> : 0.2	Después
	b <sub>2</sub> : Con	a <sub>1</sub> b <sub>2</sub> : 0.0	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub> : 0.0	

\* $p=0.01$ .

Anexo 5. Cantidad de folículos >6 mm de diámetro en ovejas Pelibuey prepúberes.

	Factor A:	Reconstituyente energético (REC)		Efecto
Factor B:		a <sub>1</sub> : Sin	a <sub>2</sub> : Con	
Efecto	b <sub>1</sub> : Sin	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> : 0.7	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub> : 0.3	Antes
	b <sub>2</sub> : Con	a <sub>1</sub> b <sub>2</sub> : 0.4	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub> : 0.2	
Macho (EM)	b <sub>1</sub> : Sin	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> : 0.0**	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub> : 0.0	Después
	b <sub>2</sub> : Con	a <sub>1</sub> b <sub>2</sub> : 0.6	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub> : 0.4	

\*\* $p=0.0001$ .

Anexo 6. Tasa ovulatoria en ovejas Pelibuey prepúberes.

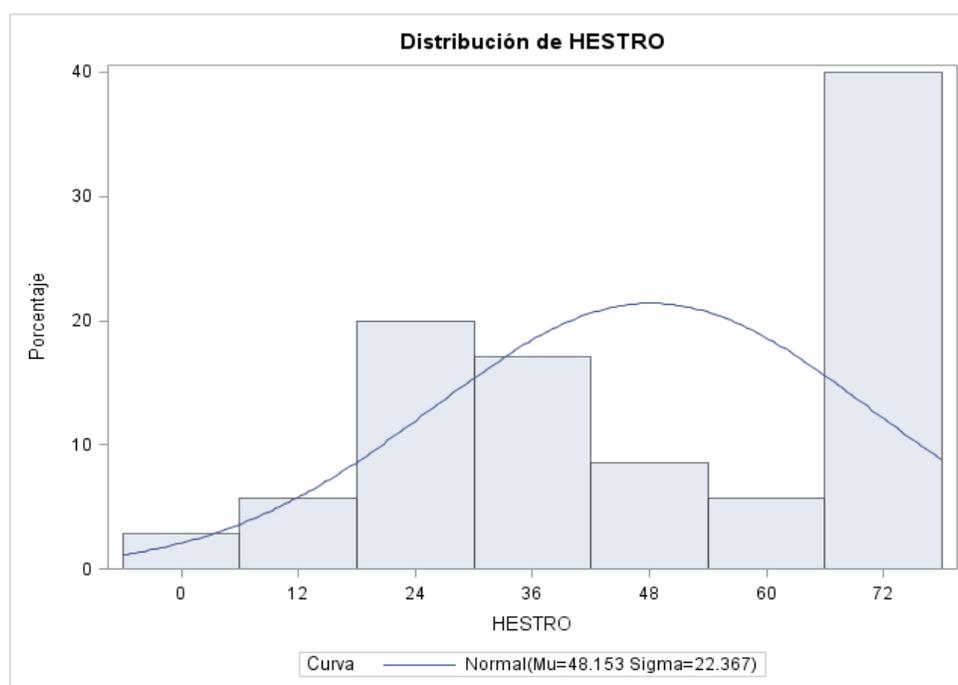
Factor	Tratamiento	n	CL Antes	CL Después	TO	Pr>t
Testigo	T1: sRECsEM	12	0	0	0.00	-
A	T2: cRECsEM	12	0	2	0.17	-
B	T3: sRECCeEM	10	0	7	0.70	0.0001
A*B	T4: cRECCeEM	12	0	9	0.75	0.0013

CL: cuerpo lúteo, TO: tasa ovulatoria.

Anexo 7. Prueba de Tipo III para efectos fijos e interacción por periodo de tiempo, para el cambio de peso en ovejas Pelibuey prepúberes, en respuesta a la acción del reconstituyente energético (A) y al 'efecto macho' (B).

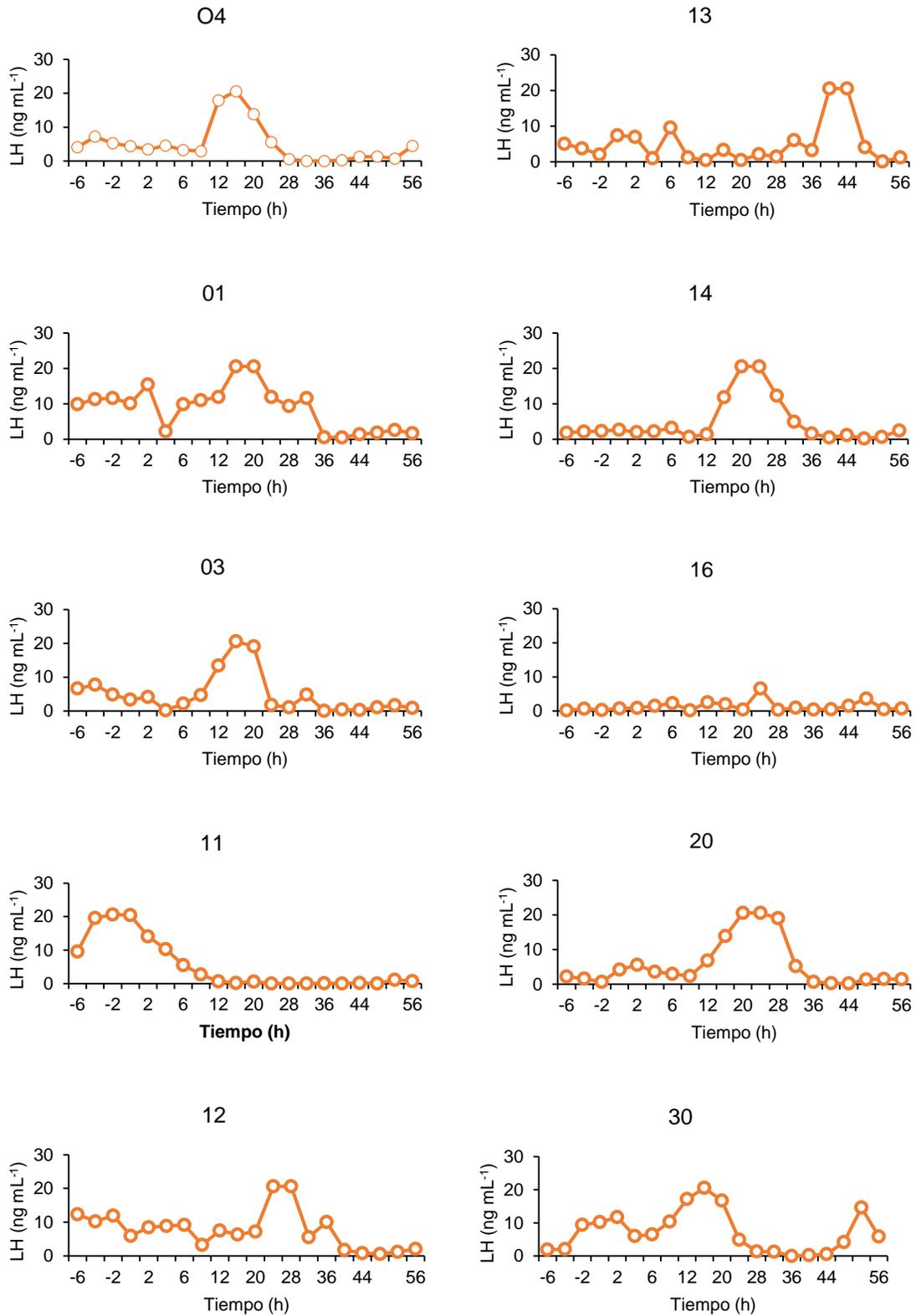
Efecto	Periodo experimental (d)												P
	0	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77	
A*T	NS	*	*	*	*	*	*	NS	*	**	NS	**	0.0011
B*T	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	0.1237
A*B*T	NS	NS	*	*	*	**	*	NS	NS	**	NS	*	0.0041

T: Tiempo, NS: No significativo ( $p > 0.05$ ), \*: significativo ( $p < 0.05$ ), \*\*: altamente significativo ( $p < 0.01$ ).

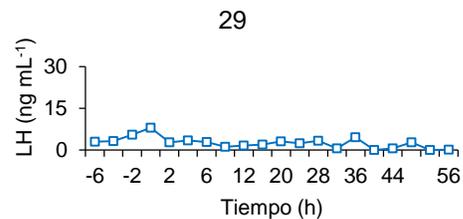
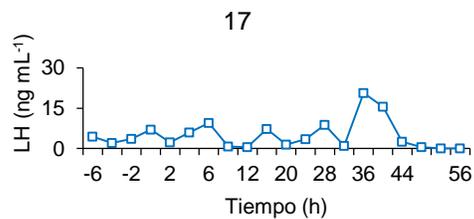
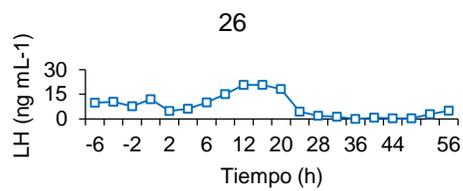
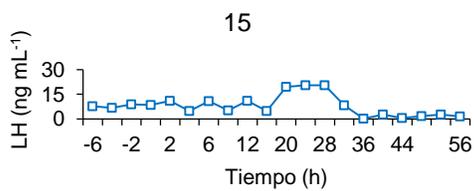
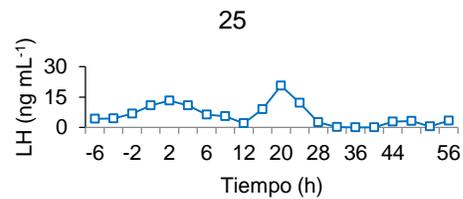
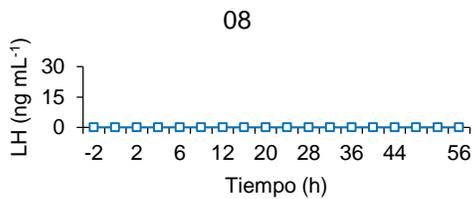
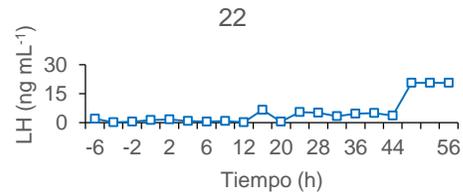
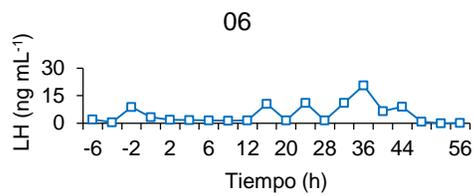
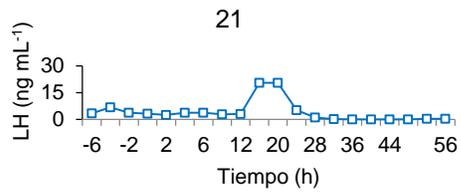
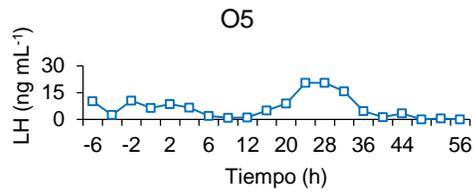
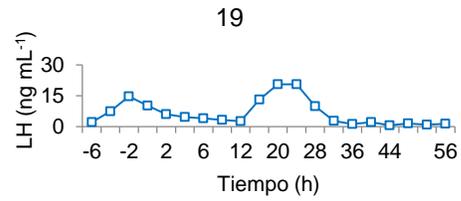
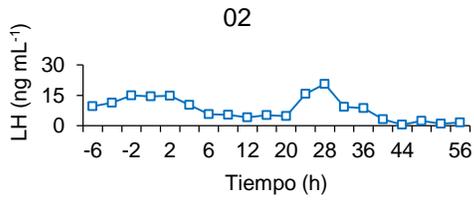


Anexo 8. Histograma del inicio del estro (HESTRO) en ovejas Pelibuey que muestra la curva diferente a la normal (Prueba de Shapiro-Wilk,  $Pr < W: 0.0006$ ).

Anexo 9. Cantidades plasmáticas de la LH en ovejas Pelibuey prepúberes, estimuladas con 'efecto macho'.



Anexo 10. Cantidades plasmáticas de la LH en ovejas Pelibuey prepúberes, estimuladas con 'efecto macho' y suministradas con reconstituyente energético.



Anexo 11. Porcentaje de retorno al estro, de gestación y parición en ovejas Pelibuey prepúberes en respuesta al reconstituyente energético (REC+CIDR) y a la combinación del 'efecto macho' con el suministro del reconstituyente energético (EM+REC+CIDR), previo a la inserción del progestágeno.

Tratamientos	n	Hembras		Gestantes		Paridas	
		en estro (n)	en retorno (n) (%)	(n)	(%)	(n)	(%)
T1: EM+REC+CIDR	18	15	7 46.7 <sup>a</sup>	8	53.3 <sup>a</sup>	8	100.0 <sup>a</sup>
T2: REC+CIDR	17	9	4 44.4 <sup>a</sup>	5	55.6 <sup>a</sup>	5	100.0 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>: Valores con literal similar en la misma columna son iguales ( $p>0.05$ ).

Anexo 12. Número de crías nacidas de ovejas Pelibuey prepúberes en respuesta al reconstituyente energético (REC+CIDR) y a la combinación del 'efecto macho' con el suministro del reconstituyente energético (EM+REC+CIDR), previo a la inserción del progestágeno.

Tratamientos	N	Ovejas	Crías	Prolificidad <sup>†</sup>	Fecundidad <sup>†</sup>
		paridas (n)	nacidas (n)		
T1: EM+REC+CIDR	18	8	13	1.6 ± 0.2 <sup>a</sup>	0.7 ± 0.2 <sup>a</sup>
T2: REC+CIDR	17	5	5	1.0 ± 0.0 <sup>b</sup>	0.3 ± 0.1 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>, <sup>b</sup>: Valores con distinta literal en la misma columna son diferentes ( $p<0.05$ ).

<sup>†</sup>Media ± error estándar.

Anexo 13. Cambio de peso en (kg) para las ovejas Pelibuey prepúberes suministradas con un reconstituyente energético (REC+CIDR) y en combinación con 'efecto macho' y el suministro del reconstituyente energético (EM+REC+CIDR), previo a la inserción del progestágeno.

Tratamiento	n	Periodo experimental (d)												$\bar{x}$
		0	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77	
EM+ REC+CIDR	18	31.3 <sup>a</sup> *	33.2 <sup>a</sup> NS	33.5 <sup>a</sup> NS	33.6 <sup>a</sup> NS	34.1 <sup>a</sup> NS	34.0 <sup>a</sup> NS	36.6 <sup>a</sup> *	37.0 <sup>a</sup> NS	37.3 <sup>a</sup> NS	38.1 <sup>a</sup> NS	38.3 <sup>a</sup> NS	36.8 <sup>a</sup> *	35.3 <sup>a</sup>
REC+CIDR	17	30.6 <sup>a</sup> *	32.7 <sup>a</sup> *	33.7 <sup>a</sup> NS	33.8 <sup>a</sup> NS	34.2 <sup>a</sup> NS	34.9 <sup>a</sup> NS	36.7 <sup>a</sup> *	36.5 <sup>a</sup> NS	37.0 <sup>a</sup> NS	37.8 <sup>a</sup> NS	38.0 <sup>a</sup> NS	36.8 <sup>a</sup> *	35.2 <sup>a</sup>

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

Significancia: NS= no significativo, \*: significativo ( $p<0.05$ ).

Anexo 14. Tasa de gestación y parición en ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo estimuladas con 'efecto macho' (AC+EM+CIDR) y sin el 'efecto macho' (AC+CIDR), previo a la inserción del dispositivo intravaginal.

Tratamiento	n	Gestantes		Paridas	
		(n)	(%)	(n)	(%)
T1: AC+EM+CIDR	29	24	82.8 <sup>a</sup>	23	95.8 <sup>a</sup>
T2: AC+CIDR	29	15	55.6 <sup>b</sup>	13	86.7 <sup>a</sup>

<sup>a, b</sup>: Valores con distinta literal en la misma columna son diferentes ( $p < 0.05$ ).

Anexo 15 Cantidad de crías nacidas en ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo estimuladas con 'efecto macho' (AC+EM+CIDR) y sin 'efecto macho' (AC-EM+CIDR), previo a la inserción del dispositivo intravaginal.

Tratamiento	n	Ovejas paridas (n)	Corderos nacidos (n)	Prolificidad <sup>†</sup>	Fecundidad <sup>†</sup>
T1: AC+EM+CIDR	29	23	46	2.0 ± 0.2 <sup>a</sup>	1.6 ± 0.2 <sup>a</sup>
T2: AC-EM+CIDR	29	13	27	2.2 ± 0.2 <sup>a</sup>	0.9 ± 0.2 <sup>b</sup>

<sup>a, b</sup>: Valores con distinta literal en la misma columna son diferentes ( $p < 0.05$ ).

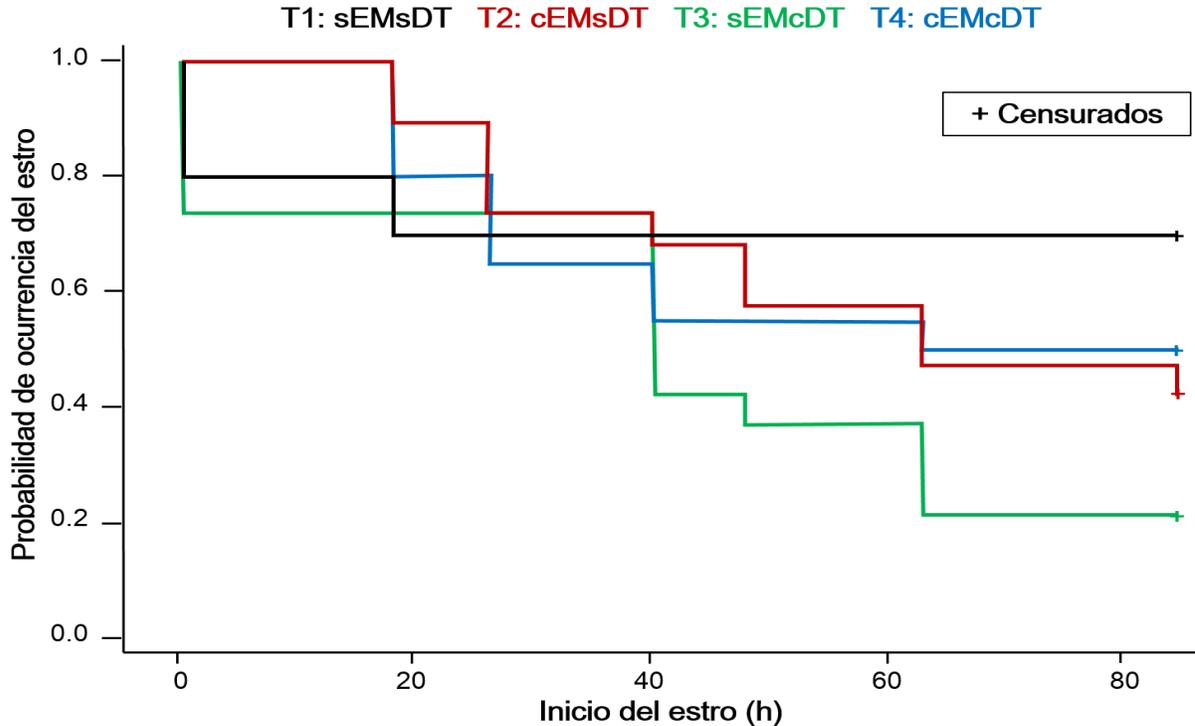
<sup>†</sup>Media ± error estándar.

Anexo 16. Cambio de peso en (kg) para las ovejas Pelibuey prepúberes suministradas con un reconstituyente energético (REC+CIDR) y en combinación con 'efecto macho' y el suministro del reconstituyente energético (EM+REC+CIDR), previo a la inserción del progestágeno.

Tratamiento	n	Periodo experimental postparto (d)										$\bar{x}$
		15	22	29	36	43	50	57	64	71	78	
T1: AC+EM+CIDR	29	54.7 <sup>a</sup>	54.8 <sup>a</sup>	56.4 <sup>a</sup>	54.2 <sup>a</sup>	54.1 <sup>a</sup>	54.6 <sup>a</sup>	56.5 <sup>a</sup>	55.2 <sup>a</sup>	53.7 <sup>a</sup>	54.5 <sup>a</sup>	54.9 <sup>a</sup>
		.	NS	**	*	NS	NS	**	*	**	NS	
T2: AC+CIDR	29	54.7 <sup>a</sup>	56.2 <sup>a</sup>	56.5 <sup>a</sup>	56.2 <sup>a</sup>	54.9 <sup>a</sup>	55.5 <sup>a</sup>	58.0 <sup>a</sup>	55.6 <sup>a</sup>	54.8 <sup>a</sup>	55.4 <sup>a</sup>	55.8 <sup>a</sup>
		.	**	NS	NS	**	NS	**	**	NS	NS	

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

Significancia: NS= no significativo, \*: significativo ( $p < 0.05$ ), \*\*: altamente significativo ( $p < 0.01$ ).



Anexo 17. Curva de supervivencia para el inicio del estro en ovejas Pelibuey en respuesta al ‘efecto macho’ (cEMsDT), al destete temporal (sEMcDT), a la interacción de factores (cEMcDT) y al tratamiento testigo (sEMsDT). Log Rank:  $p=0.11$ .

Anexo 18. Tasa de gestación y parición en ovejas Pelibuey en respuesta al ‘efecto macho’ (cEMsDT), al destete temporal (sEMcDT), a la interacción de factores (cEMcDT) y al tratamiento testigo (sEMsDT).

Factor	Tratamiento	n	Gestantes		Paridas	
			n	%	n	%
Testigo	T1: sEMsDT	20	5	83.3 <sup>a</sup>	5	100.0 <sup>a</sup>
A	T2: sEMcDT	19	8	72.7 <sup>a</sup>	8	100.0 <sup>a</sup>
B	T3: cEMsDT	20	9	90.0 <sup>a</sup>	8	88.9 <sup>a</sup>
A*B	T4: cEMcDT	19	14	93.3 <sup>a</sup>	14	100.0 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>: Valores con literal similar en la misma columna son iguales ( $p>0.05$ ).

Anexo 19. Respuesta a la inducción del estro en ovejas Pelibuey prepúberes estimuladas con 'efecto macho' (EM+CIDRr) y sin este estímulo (sEM+CIDRr), previo a la inserción del dispositivo intravaginal reutilizado.

Tratamiento	n	Ovejas en estro		Inicio del estro <sup>†</sup> (h)	Retorno al estro		Duración del retorno <sup>†</sup> (d)
		n	%		n	%	
T1: EM+CIDRr	16	15	93.8 <sup>a</sup>	39.7 ± 5.0 <sup>a</sup>	3	20.0 <sup>a</sup>	14.9 ± 0.1 <sup>a</sup>
T2: sEM+CIDRr	17	12	70.6 <sup>a</sup>	59.2 ± 2.9 <sup>b</sup>	4	33.3 <sup>b</sup>	11.0 ± 0.9 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>, <sup>b</sup>: Valores con distinta literal en la misma columna son diferentes ( $p < 0.05$ ).

<sup>†</sup>Media ± error estándar.

Anexo 20. Tasas de gestación y parición en ovejas Pelibuey prepúberes estimuladas con 'efecto macho' (EM+CIDRr) y sin este estímulo (sEM+CIDRr), previo a la inserción del dispositivo intravaginal reutilizado.

Tratamiento	n	Ovejas en estro (n)	Gestantes		Paridas	
			n	%	n	%
T1: EM+CIDRr	16	15	12	80.0 <sup>a</sup>	12	100.0 <sup>a</sup>
T2: sEM+CIDRr	17	12	8	66.7 <sup>a</sup>	8	100.0 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>: Valores con literal similar en la misma columna son iguales ( $p > 0.05$ ).

Anexo 21. Cantidad de crías nacidas de ovejas Pelibuey prepúberes estimuladas con 'efecto macho' (EM+CIDRr) y sin este estímulo (sEM+CIDRr), previo a la inserción del dispositivo intravaginal reutilizado.

Tratamiento	n	Ovejas paridas (n)	Corderos nacidos (n)	Prolificidad <sup>†</sup>	Fecundidad <sup>†</sup>
T2: sEM+CIDRr	17	8	9	1.1 ± 0.2 <sup>a</sup>	0.5 ± 0.2 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>, <sup>b</sup>: Valores con diferente literal en la misma columna son iguales ( $p < 0.05$ ).

<sup>†</sup>Media ± error estándar.

Anexo 22. Respuesta al estro en ovejas Pelibuey postparto con amamantamiento continuo estimuladas con 'efecto macho' (AC+EM+CIDRr) y sin 'efecto macho' (AC+CIDRr), previo a la inserción del dispositivo intravaginal reutilizado.

Tratamiento	n	Ovejas en estro		Inicio del estro <sup>†</sup>	Retorno al estro		Duración del retorno <sup>†</sup>
		n	%	(h)	n	%	(d)
T1: AC+EM+CIDRr	15	14	93.3 <sup>a</sup>	31.2 ± 3.2 <sup>a</sup>	3	21.4 <sup>a</sup>	13.8 ± 0.1 <sup>a</sup>
T2: AC+CIDRr	15	14	73.3 <sup>a</sup>	57.1 ± 3.3 <sup>b</sup>	5	45.5 <sup>a</sup>	14.0 ± 1.0 <sup>a</sup>

<sup>a, b</sup>: Valores con distinta literal en la misma columna son diferentes ( $p < 0.05$ ).

<sup>†</sup>Media ± error estándar.

Anexo 23. Tasas de gestación y parición en ovejas Pelibuey postparto con amamantamiento continuo y 'efecto macho' (AC+EM+CIDRr) y sin 'efecto macho' (AC+sEM+CIDRr), previo a la inserción del dispositivo intravaginal reutilizado.

Tratamiento	n	Ovejas en estro (n)	Gestantes		Paridas	
			n	%	n	%
T1: AC+EM+CIDRr	15	14	11	78.6 <sup>a</sup>	11	100.0 <sup>a</sup>
T2: AC+CIDRr	15	11	6	54.6 <sup>a</sup>	6	100.0 <sup>a</sup>

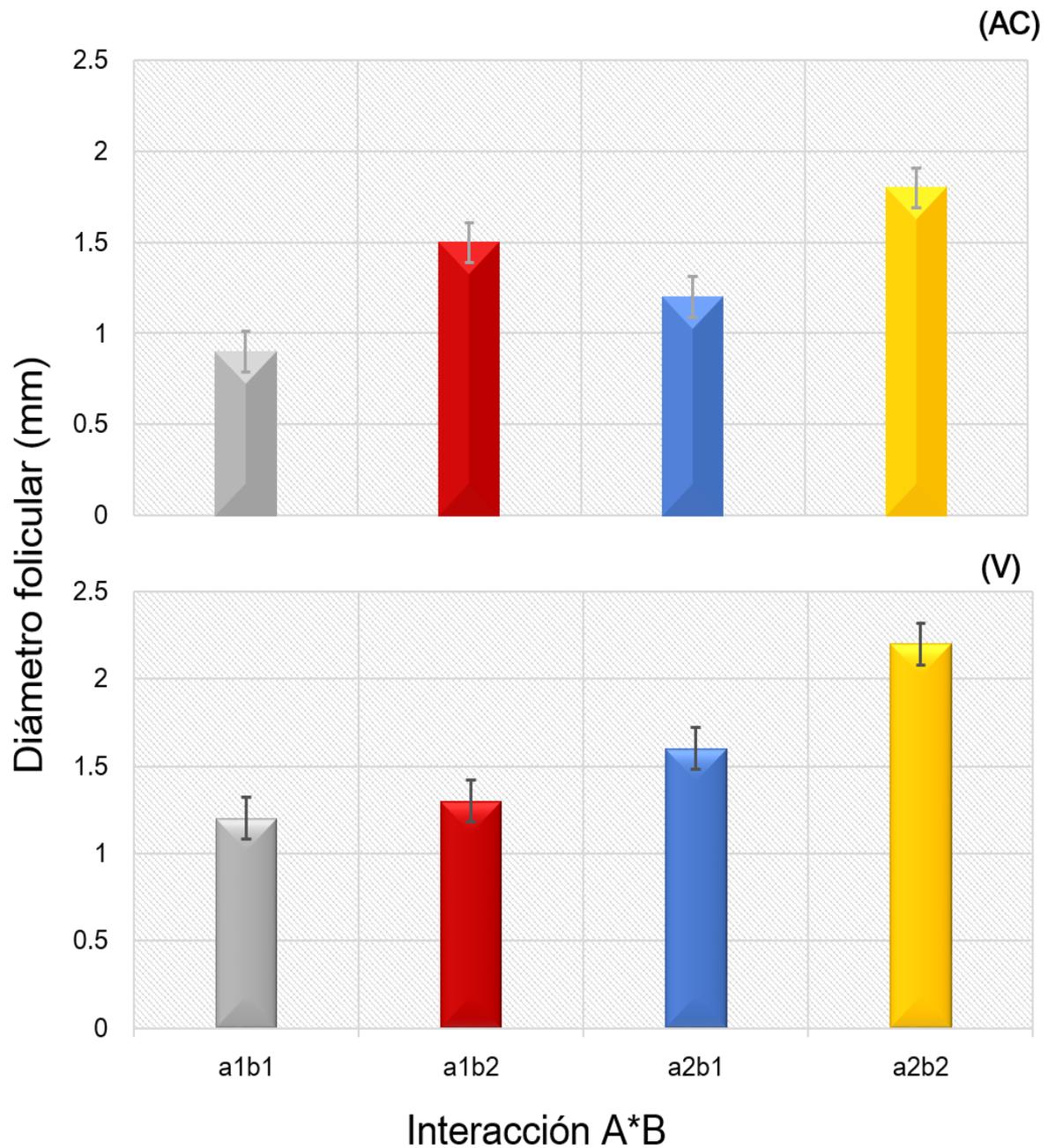
<sup>a</sup>: Valores con literal similar en la misma columna son iguales ( $p > 0.05$ ).

Anexo 24. Cantidad de crías nacidas de ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo estimuladas con 'efecto macho' (AC+EM+CIDRr) y sin 'efecto macho' (AC+sEM+CIDRr), previo a la inserción del dispositivo intravaginal reutilizado.

Tratamiento	n	Ovejas paridas (n)	Crías nacidas (n)	Prolificidad <sup>†</sup>	Fecundidad <sup>†</sup>
T1: AC+EM+CIDRr	15	11	26	2.4 ± 0.2 <sup>a</sup>	1.7 ± 0.3 <sup>a</sup>
T2: AC+CIDRr	15	6	15	2.2 ± 0.3 <sup>a</sup>	0.9 ± 0.3 <sup>b</sup>

<sup>a, b</sup>: Valores con distinta literal en la misma columna son diferente ( $p < 0.05$ ).

<sup>†</sup>Media ± error estándar.



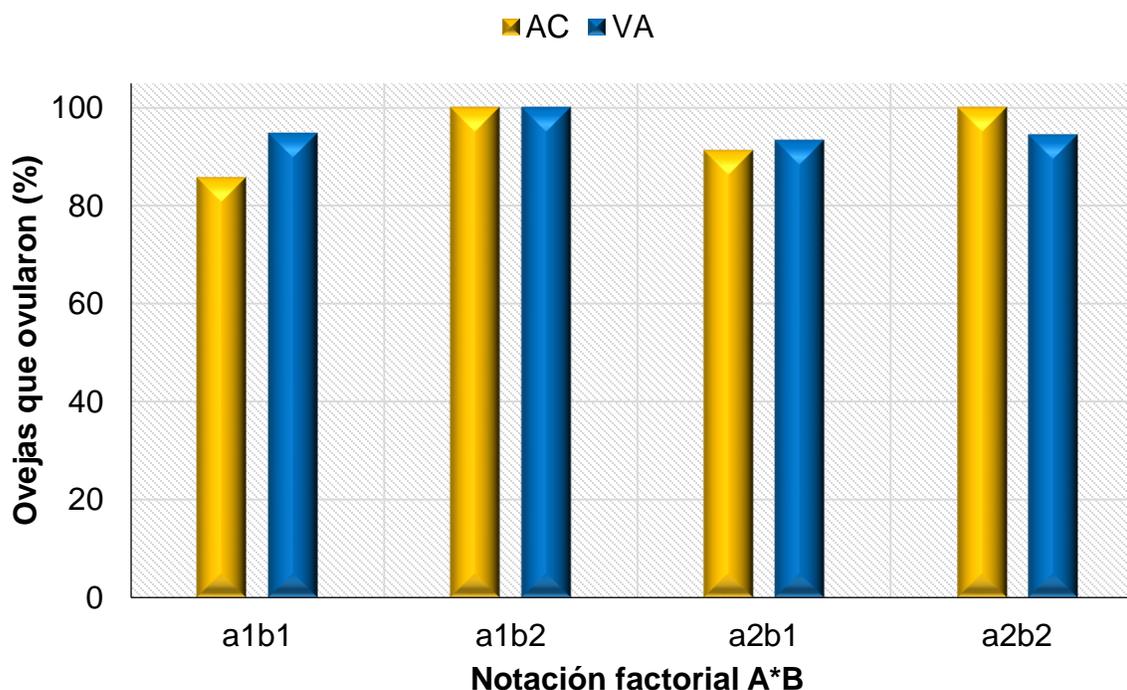
Anexo 25. Folículos ováricos mayores de 6 mm de diámetro en ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo (AC) y vacías (V), en respuesta a la interacción de los factores A (a1: sin nutrición focalizada y a2: con nutrición focalizada) por B (b1: condición corporal baja y b2: condición corporal alta); notación a2b2 ( $p < 0.05$ ).

Anexo 26. Porcentaje de ovulación en ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo (AC) y vacías (V).

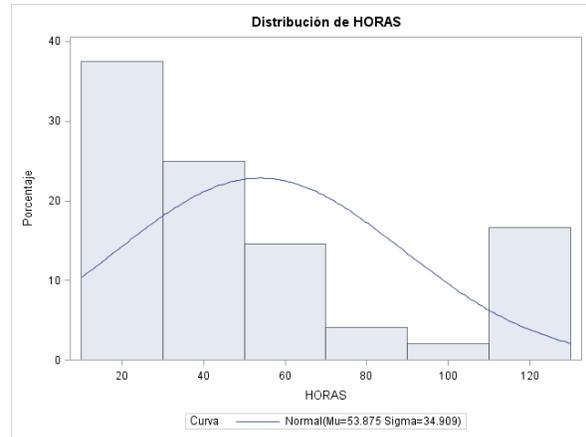
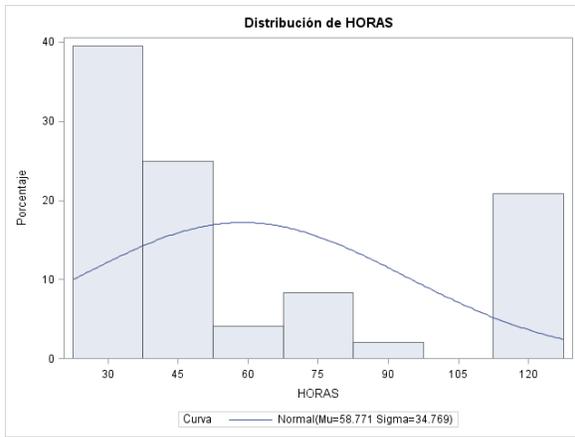
Estado Fisiológico	Notación	Tratamientos	n	Ovejas que ovularon	
				n	%
AC	a1b1	ACsNFCCb	14	12	85.7 <sup>a</sup>
	a1b2	ACsNFCCa	13	13	100 <sup>a</sup>
	a2b1	ACcNFCCb	12	11	91.2 <sup>a</sup>
	a2b2	ACcNFCCa	13	13	100 <sup>a</sup>
V	a1b1	VsNFCCb	18	17	94.7 <sup>a</sup>
	a1b2	VsNFCCa	18	18	100.0 <sup>a</sup>
	a2b1	VcNFCCb	15	14	93.3 <sup>a</sup>
	a2b2	VcNFCCa	18	17	94.4 <sup>a</sup>

NF: nutrición focalizada, sNF: sin nutrición focalizada, CCb: condición corporal baja, CCa: condición corporal alta.

<sup>a</sup>: Valores con misma literal en columna son similares ( $p>0.05$ ).



Anexo 27. Porcentaje de ovulación en ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo (AC) y en ovejas vacías (VA), en respuesta a la interacción de los factores A (a1: sin nutrición focalizada y a2: con nutrición focalizada) por B (b1: condición corporal baja y b2: condición corporal alta;  $p>0.05$ ).



Anexo 28. Histograma del inicio del estro (HORAS) en ovejas Pelibuey con amamantamiento continuo (izquierda) y en ovejas vacías (derecha) que muestra la curva diferente a la normal (Prueba de Shapiro-Wilk,  $Pr < W: 0.0001$ ).

