



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

GANADERÍA

JALEA REAL Y SU EFECTO EN VARIABLES REPRODUCTIVAS DE OVEJAS DE PELO

ELIZABETH PÉREZ RUIZ

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL
GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO

2017

La presente tesis, titulada “**Jalea real y su efecto en variables reproductivas de ovejas de pelo**”, realizada por la alumna: **Elizabeth Pérez Ruiz**, bajo la dirección del consejo particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GANADERÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



DR. JAIME GALLEGOS SÁNCHEZ

ASESOR



DR. PONCIANO PÉREZ HERNÁNDEZ

ASESOR



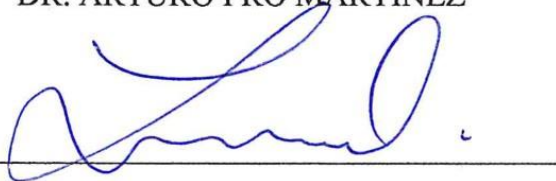
DR. CESAR CORTEZ ROMERO

ASESOR



DR. ARTURO PRO MARTÍNEZ

ASESOR



DR. JUAN SALAZAR ORTIZ

Montecillo, Texcoco, Estado de México, marzo de 2017

Jalea real y su efecto en variables reproductivas

Colegio de Postgraduados, 2017

Resumen

Se realizaron tres estudios para evaluar el efecto de la jalea real (JR) en variables reproductivas de ovejas de pelo en diferentes estados fisiológicos y reproductivos. En el primer estudio, se evaluaron dos dosis de JR (0.5 y 1.0 g por 3 d) usando 79 ovejas cíclicas, las cuales se asignaron a uno de cuatro tratamientos: CIDR (n = 20), CIDR + eCG (n = 20), CIDR + 0.5 g JR (n=20) y CIDR + 1.0 g JR (n=19). En el segundo estudio, se evaluaron nueve aplicaciones de 1.0 g de JR y dos modalidades de amamantamiento utilizando 48 ovejas y sus corderos, distribuidas al azar a uno de cuatro tratamientos: amamantamiento continuo (AC; n = 12); AC con JR (ACJR; n = 12); amamantamiento controlado (Ac; n = 12); Ac con JR (AcJR; n = 12). En el tercer estudio, se probaron cuatro aplicaciones de 1.0 g de JR (con y sin) y dos modalidades de amamantamiento (AC y Ac), en un protocolo de manejo reproductivo al destete. Se utilizaron 75 ovejas postparto, asignadas al azar a uno de cuatro tratamientos: AC (n = 16); ACJR (n = 17); Ac (n = 15); AcJR (n = 16). En los estudios I y II, las ovejas se sincronizaron con CIDR por 9 d y PGF_{2α} el día siete del protocolo; en el tercer estudio, la respuesta se evaluó en estros naturales al momento del destete. En el primer estudio, la administración de 1.0 g de JR acortó el inicio a estro ($p < 0.001$). El porcentaje de ovejas gestantes, fertilidad o prolificidad en ovejas tratadas con 0.5 y 1.0 g de JR por tres días, fue similar al obtenido con una dosis de 300 UI de eCG. En el segundo y tercer estudio, la duración del estro fue mayor en las ovejas tratadas con JR ($p < 0.05$). En el tercer estudio, el porcentaje de gestación se incrementó en las ovejas en amamantamiento controlado con y sin JR ($p < 0.05$). En el postparto, la JR y control del amamantamiento mejoran el porcentaje de gestación, por lo cual, la JR puede ser una alternativa en el manejo reproductivo de las ovejas en sistemas de producción limpia.

Palabras clave: pelibuey, jalea real, postparto, amamantamiento.

Royal Jelly and its effect in reproductive traits en hair ewes

Elizabeth Pérez Ruiz, Dra.

Colegio de Postgraduados, 2017

Abstract

Three studies were conducted to evaluate the effect of royal jelly (JR) on reproductive traits of hair sheep in different physiological and reproductive states. In the first study, two doses of JR (0.5 and 1.0 g per 3 d) were evaluated using 79 cyclic ewes, which were assigned to one of four treatments: CIDR (n = 20), CIDR + eCG (n = 20), CIDR + 0.5 g JR (n = 20) and CIDR + 1.0 g JR (n = 19). In the second study, nine applications of 1.0 g of JR and two suckling modalities were evaluated using 48 sheep and their lambs, randomly assigned to one of four treatments: continuous suckling (AC; n = 12); AC with JR (ACJR; n = 12); Controlled suckling (Ac; n = 12); Ac with JR (AcJR; n = 12). In the third study, four applications of 1.0 g of JR (with and without) and two modalities of suckling (AC and Ac) were tested in a reproductive management protocol at birth. 75 postpartum sheep were randomly assigned to one of four treatments: AC (n = 16); ACJR (n = 17); Ac (n = 15); AcJR (n = 16). In studies I and II, sheep were synchronized with CIDR by 9 d and PGF2 α on day seven of the protocol; In the third study, the response was evaluated in natural estrus at the time of weaning. In the first study, administration of 1.0 g of JR shortened estrus (p 0.001). The percentage of pregnant sheep, fertility or prolificacy in sheep treated with 0.5 and 1.0 g of JR for three days was similar to that obtained with 300 IU of eCG. In the second and third studies, estrus duration was higher in sheep treated with JR (p < 0.05). In the third study, the percentage of gestation was increased in controlled suckling ewes with and without JR (p < 0.05). In the postpartum period, the JR and control of suckling improve the gestation rate, so that the JR can be an alternative in the reproductive management of sheep in clean production systems.

Palabras clave: pelibuey, royal jelly, postpartum, suckling.

DEDICATORIA

A todos mis seres queridos
Mis padres, hermanos y amigos.

A los que han sido estrellas fugaces en mi vida, y a aquellos que siguen iluminando mi camino.

*“Una mujer para escribir necesita dinero y un cuarto propio. Sólo a partir de estas dos posesiones
puede empezar a crear”*

Virginia Woolf

AGRADECIMIENTOS

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)**, por la beca otorgada para mis estudios de doctorado.

Al **Colegio de Postgraduados**, por haberme dado la oportunidad de realizar los estudios de doctorado.

Al Dr. **Jaime Gallegos Sánchez**, por la oportunidad que me brindó para ser parte del grupo de reproducción, la dirección de la tesis, el apoyo y amistad.

Al Dr. **Juan Salazar Ortiz**, por la participación en el consejo particular y sobre todo por su amistad.

Al Dr. **Cesar Cortez Romero**, por el tiempo invertido en la revisión de la tesis, amistad y apoyo.

Al Dr. **Ponciano Hernández Pérez**, por la participación en el consejo particular, todo el tiempo dedicado, sugerencias, ayuda y paciencia en la redacción de la tesis.

Al Dr. **Arturo Pro Martínez**, por la revisión de la tesis y valiosos comentarios.

Al Dr. **Juan Manuel Cuca García**, por su participación como sinodal en el examen de grado y las enseñanzas aportadas durante los cursos de seminario.

Al Dr. **Humberto Vaquera Huerta**, por su valiosa ayuda con el análisis estadístico.

A mis compañeros de **LaROCa**, por la ayuda brindada durante la fase experimental y en especial por su amistad.

Al personal académico y administrativo del programa de ganadería.

Da igual. Prueba otra vez. Fracasa otra vez. Fracasa mejor.

Samuel Beckett

CONTENIDO

	Página
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
CAPÍTULO I. JALEA REAL: PROPIEDADES BIOLÓGICAS Y APLICACIONES EN PRODUCCIÓN ANIMAL	3
RESUMEN	3
ABSTRACT	3
INTRODUCCIÓN	4
COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA JALEA REAL	4
ACTIVIDADES BIOLÓGICAS DE LA JR EN LA REPRODUCCIÓN	7
CONCLUSIONES	10
CAPÍTULO II. JALEA REAL Y SU EFECTO EN LA SINCRONIZACIÓN DE ESTROS EN OVEJAS DE PELO	12
RESUMEN	12
ABSTRACT	12
INTRODUCCIÓN	13
MATERIALES Y MÉTODOS	14
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	18
CONCLUSIONES	23
CAPÍTULO III. RESTRICCIÓN DEL AMAMANTAMIENTO Y ADMINISTRACIÓN DE JALEA REAL EN OVEJAS DE PELO	25
RESUMEN	25
ABSTRACT	26
INTRODUCCIÓN	26
MATERIALES Y MÉTODOS	28
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
CONCLUSIONES	44

CAPITULO IV. MANEJO REPRODUCTIVO EN OVEJAS PELIBUEY CON CONTROL DEL AMAMANTAMIENTO Y ADMINISTRACIÓN DE JALEA REAL	46
RESUMEN	46
ABSTRACT	47
INTRODUCCIÓN	47
MATERIALES Y MÉTODOS	48
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	52
CONCLUSIONES	60
DISCUSIÓN GENERAL	62
CONCLUSIONES GENERALES	65
LITERATURA CITADA	66

LISTA DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Porcentaje de ovejas de pelo que manifestaron estro y tiempo de inicio de éste durante un protocolo de sincronización de estros con la aplicación de dos dosis diferentes de jalea real (JR).	18
Cuadro 2. Porcentaje de retorno al estro y gestación en ovejas de pelo sincronizadas con CIDR y administración de dos dosis de JR vía IM.	21
Cuadro 3. Fecundidad y prolificidad en ovejas de pelo sincronizadas con CIDR y administración de dos dosis de JR vía IM.	22
Cuadro 1. Porcentaje de ovejas pelibuey que manifestaron signos de estro, tiempo de inicio y duración del estro (media \pm error estándar) con la aplicación de JR y dos modalidades de amamantamiento durante el periodo postparto.	36
Cuadro 2. Porcentaje de retorno al estro y gestación en ovejas de pelo sincronizadas con CIDR y administración de dos dosis de JR vía IM.	40
Cuadro 3. Porcentaje de ovejas que quedaron gestantes a los 35 o 55 días postparto y porcentaje de ovejas que parieron después de un protocolo de inducción del estro con la aplicación de JR y dos modalidades de amamantamiento durante el periodo postparto.	42
Cuadro 4. Fecundidad y prolificidad (media \pm EE) en ovejas pelibuey después de un protocolo de inducción del estro con la aplicación de JR y dos modalidades de amamantamiento durante el periodo postparto.	44
Cuadro 1. Efecto del amamantamiento y de la jalea real en la ovulación de ovejas pelibuey durante el postparto (%).	53

Cuadro 2. Ovejas que manifestaron estro, tiempo de inicio y duración del estro (media \pm error estándar) con la aplicación de JR y dos modalidades de amamantamiento durante el periodo postparto.	55
Cuadro 3. Tasa de ovulación (media \pm EE) y porcentaje de retorno en ovejas pelibuey con dos tipos de amamantamiento y aplicación de jalea real, durante el periodo postparto.	57
Cuadro 4. Ovejas gestantes y ovejas paridas con dos tipos de amamantamiento y aplicación de jalea real, durante el periodo postparto.	58
Cuadro 5. Fecundidad y prolificidad en ovejas pelibuey con dos tipos de amamantamiento y aplicación de jalea real, durante el periodo postparto.	59

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Curvas de supervivencia de tiempo de inicio al estro en ovejas de pelo sincronizadas con CIDR y administración de dos dosis de JR vía IM.	20
Figura 1. Esquema de protocolo experimental. AC= 24 h d ⁻¹ ; Ac = dos periodos de 30 min d ⁻¹ . JR= nueve dosis de 1.0 g d ⁻¹ . CIDR (controled Internal Drug reléase) por 9 d. TO = tasa de ovulación.	31
Figura 2. Cambio de peso corporal en ovejas pelibuey postparto con dos modalidades de amamantamiento y aplicación de jalea real.	34
Figura 3. Cambio de peso corporal en corderos pelibuey mantenidos en dos modalidades de amamantamiento y administración de jalea real a las madres.	35
Figura 4. Curvas de supervivencia de tiempo al inicio del estro (h), después del retiro del CIDR, con o sin la aplicación de JR y dos modalidades de amamantamiento durante el periodo postparto en ovejas Pelibuey.	38
Figura 5. Curvas de supervivencia para duración del estro (h), con la aplicación de JR y dos modalidades de amamantamiento durante el periodo postparto en ovejas Pelibuey.	39
Figura 1. Esquema de protocolo experimental.	50

INTRODUCCIÓN GENERAL

La demanda de alimentos a nivel mundial representa un desafío para el sector agropecuario. Entre 1964-66 y 1997-99, el consumo de carne per cápita en los países en desarrollo aumentó 50 % y 60 % el de leche y productos lácteos (FAO, 2002). Para 2030, el consumo per cápita de productos pecuarios podría aumentar otro 44 % (FAO, 2002). Lo anterior implica que para alimentar a la población mundial de 9 100 millones de personas, estimada para 2050, sería necesario aumentar la producción de alimentos 70 % entre 2005/07 y 2050. La producción en los países en desarrollo casi tendría que duplicarse (FAO, 2009). Además de satisfacer las necesidades de alimentos que la población requiere, en años recientes la demanda de estos cambió. Existen diversos sectores de la población que están atentos a lo que sucede en los sistemas de producción, y la atención por el bienestar de los animales de abasto (Aluja, 2011), lo cual hace necesario mejorar los procesos productivos (Martin y Kadokawa, 2006).

En manejo reproductivo de pequeños rumiantes, es posible disminuir el uso de hormonas exógenas o fármacos al optimizar la respuesta animal al ambiente y la nutrición. Estas estrategias de manejo plantean el uso del conocimiento y aprovechamiento de los recursos disponibles (Delgadillo y Martin, 2015). En el manejo reproductivo de los ovinos, es posible aprovechar efectos socio-sexuales (efecto macho), en conjunto con el uso combinado de nutrición focalizada o estratégica (Martin, 2009), con suplementos que contengan compuestos bioactivos (Delgadillo y Martin, 2015) o modifiquen las concentraciones de hormonas metabólicas (Scaramuzzi *et al.*, 2006) para mejorar el desempeño reproductivo (Martin *et al.*, 2004; Viñoles *et al.*, 2009; Gutierrez *et al.*, 2011). Al respecto, la jalea real (JR), producida por las glándulas cefálicas de las abejas obreras (Takenaka, 1986) puede mejorar la respuesta reproductiva en diferentes especies, entre ellas: humanos (Lewis, 2004; Abdelhafiz y Muhamad, 2008), ratas (Hidaka *et al.*, 2006; Salem,

2013; Ghanbar *et al.*, 2015), conejos (Elnagar, 2010; El-hanoun *et al.*, 2014) y ovinos. En ovejas de lana, se reporta que la JR incrementa la incidencia de estros, reduce el tiempo de inicio a estro (Husein y Kridli, 2002) y mejora el porcentaje de gestación (Kridli *et al.*, 2003; Husein y Haddad, 2006).

Por lo anterior, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la aplicación de JR en el desempeño reproductivo de ovejas de pelo, en diferentes estados fisiológicos. La hipótesis general fue que la administración de JR puede modificar las variables reproductivas en ovejas de pelo.

CAPÍTULO I. JALEA REAL: PROPIEDADES BIOLÓGICAS Y APLICACIONES EN PRODUCCIÓN ANIMAL

RESUMEN

La jalea real (JR) es una secreción de las glándulas cefálicas de abejas nodrizas. Tiene una composición compleja, se le atribuyen actividades farmacológicas y nutricionales, y se considera como un “alimento funcional”. Entre los componentes de la JR con propiedades antioxidantes e inmunomoduladoras, se encuentran algunas proteínas y péptidos libres. Los ácidos grasos de cadena corta, característicos de la JR muestran actividad antioxidante, inmunoreguladora y se asocian a las acciones de la JR en el eje reproductivo. La JR tiene actividad estrogénica *in vivo* e *in vitro*; en el factor masculino, la JR puede incrementar la producción de testosterona, y mejorar algunas características espermáticas. En ovejas, la JR mejora algunas variables reproductiva como incidencia y duración del estro y porcentaje de gestación. Por lo anterior, el uso de JR en producción animal puede ser una alternativa para su uso en protocolos de manejo reproductivo.

Palabras clave: alimento funcional, actividad biológica, reproducción.

ABSTRACT

Royal jelly (JR) is a secretion of cephalic glands of suckling bees. It has a complex composition, and some pharmacological and nutritional activities. JR is considered as a "functional food". Among the JR components, some proteins and free peptides have antioxidant and immunomodulatory properties. The short chain fatty acids, characteristics of JR show antioxidant and immunoregulatory activity, and they are associated with the actions of the JR in the reproductive axis. JR has estrogenic activity *in vivo* and *in vitro*; and in male factor, JR can increase the testosterone production and improve some sperm characteristics. In ewes, JR improves some reproductive traits, such as incidence and duration of estrus, and gestation percentage. Therefore,

the use of JR in animal production may be an alternative for use in reproductive management protocols.

Key words: Functional food, biological activity, reproduction.

INTRODUCCIÓN

La jalea real (JR) es una secreción de las glándulas cefálicas (hipofaríngeas y mandibulares) de abejas nodrizas de *Apis mellifera*, es el único alimento de las larvas durante los primeros días (dos a tres días) después de la eclosión, y de la abeja reina durante toda su vida (Kodai *et al.*, 2007). Esta sustancia es indispensable para la diferenciación de castas y relacionada con la longevidad de la abeja reina (Wheeler *et al.*, 2006). La JR se considera como un “alimento funcional”, es decir, como un alimento o componente alimenticio que provee efectos benéficos más allá de la nutrición básica (Hardy, 2000). La composición de la JR es compleja y se le atribuyen actividades farmacológicas y nutricionales como: antioxidante, regulador de la presión sanguínea, actividad neurotrópica, antitumoral, antiinflamatoria, inmunomoduladora, antialérgica, antibacterial, y como estimulador de la fertilidad (Pavel *et al.*, 2011). Existe evidencia de que la JR modifica el desempeño reproductivo en ratas (Hidaka *et al.*, 2006; Salem, 2013; Ghanbari *et al.*, 2015), conejos (Elnagar, 2010; El-hanoun *et al.*, 2014), ovinos (Husein y Kridli, 2002; Husein y Haddad, 2006; Kridli y Al-Khetib, 2006) y humanos (Lewis, 2004; Abdelhafiz y Muhamad, 2008). Por lo anterior, este estudio tiene como objetivo presentar una breve revisión de los efectos de la JR en el comportamiento reproductivo en diferentes modelos animales.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA JALEA REAL

La JR tiene una composición relativamente constante entre colonias, razas, época de producción y origen geográfico (Sabatini *et al.*, 2009); tiene una composición compleja, tiene un contenido de

agua de 60-70 %, su contenido de proteínas es de 12-15 % (incluidas pequeñas cantidades de aminoácidos libres), contiene 10-12 % de azúcares simples (monosacáridos) y 3-7% de ácidos grasos, además de algunos minerales, vitaminas y otros compuestos de diferente naturaleza química (Simúth, 2001). A continuación se detallan los principales componentes de la JR.

Componentes nitrogenados

De los componentes nitrogenados de la JR, se estima que 73.9 % de ellos son proteínas, 2.3 % de aminoácidos libres, y 1.6 % de péptidos libres. La JR contiene todos los aminoácidos considerados como esenciales para humanos y algunos derivados de ellos. Entre los aminoácidos más importantes presentes en la JR se encuentran los ácidos aspártico y glutámico, lisina, prolina (Takenaka *et al.*, 1986), fenilalanina, β -alanina y serina (Boselli *et al.*, 2003).

Ocho proteínas mayores (MRJP1, MRJP2, MRJP3, MRJP4, MRJP5, MRJP6, MRJP7 y MRJP8) han sido identificadas en la JR (Albert y Klaudiny, 2004), y tienen diferentes actividades biológicas. Nagai y Inoue (2004) sugieren que estas proteínas mayores de la JR tienen actividad antioxidante. La proteína MJ3 tiene efectos antiinflamatorios e inmunosupresores y promueve una respuesta antialérgica (Okamoto *et al.*, 2003). La apalbumina 1, ejerce efectos inmunoestimulatorios y proinflamatorios (Simúth, 2001), y puede regular la producción del factor de necrosis tumoral α (TNF- α) (Majtán *et al.*, 2006). Salazar-Olivo y Paz-González (2005) reportan que la fracción proteica de la JR (RJP30) exhibió un efecto citotóxico en células HeLa de carcinoma cervicouterino humano, por lo que estos autores sugieren que algunas proteínas hidrosolubles, presentes en la JR pueden tener acciones directas en el crecimiento y diferenciación celular (Salazar-Olivo y Paz-González, 2005).

Entre los péptidos libres presentes en la JR (2 a 4 aminoácidos), los que contienen residuos de tirosina en el extremo C-terminal (Lys-Tyr, Arg-Tyr y Tyr-Tyr) tienen actividad de captura de radicales hidroxilo, y se considera que son responsables de algunas de las actividades antioxidante de la JR (Guo *et al.*, 2009).

Carbohidratos

Los principales carbohidratos presentes en la JR son fructosa y glucosa (90 % del total), en proporciones relativamente constantes y similares a la de la miel. También es posible encontrar oligosacáridos como maltosa, trehalosa, isomaltosa, gentobiosa, rafinosa, melibiosa, ribosa y erlosa en pequeñas cantidades, y pueden ser indicativas de la autenticidad del producto (Sabatini *et al.*, 2009).

Lípidos

La fracción lipídica de la JR está compuesta principalmente por ácidos grasos de cadena corta (9 a 10 carbonos), hidroxí ácidos y ácidos di carboxílicos, en contraste con los ácidos grasos de 14 a 20 carbonos que se encuentran regularmente en materiales de origen vegetal y son responsables de algunas de las propiedades biológicas de esta sustancia (Hattori *et al.*, 2007) . El principal ácido graso de la JR es el ácido trans-10-hidroxi-decanoico (10-HDA), seguido de su equivalente saturado, ácido 10-hidroxi-2-decenoico (10H2DA). La presencia de estos dos compuestos son el principal criterio de autenticidad de la JR (Sabatini *et al.*, 2009; Hattori *et al.*, 2007). El 10-HDA es el responsable directo de algunas de las propiedades biológicas de la JR, se sabe que puede regular la respuesta inmune en casos de artritis reumatoide (Yang *et al.*, 2010) y está relacionado con actividad antitumoral y antimicrobiana, a través de la regulación de interleucinas e interferón (Dzopalic *et al.*, 2011).

Además de los ácidos grasos libres, la fracción lipídica contiene algunos lípidos neutros, esteroides (incluyendo el colesterol) y una fracción insaponificable de hidrocarburos similares a los extractos de cera de abejas (Kodai *et al.*, 2007).

Minerales

El contenido total de ceniza de la jalea real es de aproximadamente 0.8- 3.0 % del peso fresco o de 2 a 3 % del peso seco (Garcia-Amoedo y De Almeida-Muradian, 2007). Los principales elementos minerales en la JR (en orden descendente) son: K, Ca, Na, Zn, Fe, Cu y Mn; otros elementos traza presentes en la JR son Al, Ba, Sr, Bi, Cd, Hg, Pb, Sn, Te, Tl, W, Sb, Cr, Ni, Ti, V, Co y Mo (Stocker *et al.*, 2005).

Vitaminas

Las vitaminas que muestran los valores más uniformes son riboflavina, tiamina, niacina y ácido fólico, mientras con mayores variaciones se encuentran piridoxina, biotina, ácido pantoténico (Presoto *et al.*, 2004). Sólo trazas de vitamina C están presentes en la JR, mientras que las vitaminas solubles, como la vitamina A, D, E y K están ausentes (Presoto *et al.*, 2004).

ACTIVIDADES BIOLÓGICAS DE LA JR EN LA REPRODUCCIÓN

El uso de esta sustancia en humanos, como tratamiento farmacológico para mejorar la fertilidad está ampliamente documentado (Lewis, 2004; Abdelhafiz y Muhamad, 2008). En ratas, la JR puede disminuir síntomas peri-menopáusicos, desequilibrio hormonal y osteoporosis (Hidaka *et al.*, 2006). Los efectos farmacológicos de la JR son similares a los causados por estrógenos, y es posible que sean debidos a la interacción de algunos ácidos grasos de la JR con algunos receptores de estrógenos (Moutsatsou *et al.*, 2010).

Acción en el eje reproductivo

Existe evidencia de que la administración de JR puede tener acción directa en el eje hipotálamo–hipófisis-ovario (modelo roedor ovariectomizado), al normalizar el estado neuroendocrino, a través de la modulación de los sistemas dopamina y serotonina (Salem, 2013). Entre los componentes de la JR, los posibles candidatos, responsables de los efectos reportados en el sistema reproductivo, se encuentran algunos ácidos grasos (Suzuki *et al.*, 2008). La JR puede favorecer el desarrollo de oocitos ovinos (Abd-Allah, 2012), disminuir la apoptosis y mejorar el desarrollo de blastocistos *in vitro* (Valiollahpoor *et al.*, 2016).

Actividad estrogénica

El consumo de JR disminuye la presentación de síntomas menopáusicos en diferentes modelos animales, lo que sugiere que la JR tiene una actividad estrogénica (Mishima *et al.*, 2005a; Mishima *et al.* 2005b; Suzuki *et al.*, 2008). Mishima *et al.* (2005a), al evaluar la habilidad de la JR para competir por receptores a estrógenos E α y E β *in vitro*, encontraron que la afinidad por ambos tipos de receptores es similar, pero inferior a la mostrada por dietilestebestrol. Adicionalmente, la JR estimula la expresión de otros genes en respuesta a estrógenos como el pS2 (su transcripción es estimulada por estrógenos en algunas líneas de cáncer mamario en humanos) y VEGF (Factor de crecimiento vascular endotelial), al incrementar su transcripción en cultivo celular (MCF-7). También se reporta que estimula la proliferación celular (Mishima *et al.*, 2005a).

Estudios *in vivo* con ratas ovariectomizadas muestran que la deficiencia de estrógenos va acompañada de la disminución en la expresión de VEGF en el útero y cerebro. Al realizar estudios *in vivo* con el modelo rata ovariectomizada, la aplicación subcutánea de JR restauró la expresión de VEGF en el útero. Es posible que las sustancias estrogénicas de la JR no son capaces de traspasar la barrera hemato-encefálica, y por tanto solo actúan en órganos periféricos (Mishima *et al.*, 2005a). Suzuki *et al.* (2008) y Moutsatsou *et al.* (2010), identificaron cuatro posibles candidatos que

interactúan con el receptor E β : 10H2DA (ácido 10-hidroxi-decanoico), 10HDA (ácido 10-hidroxi-2-decenoico), 2DEA (ácido trans-2-decenoico) y 24MET (24 metilencolesterol). El 24MET constituye 49 a 58% de los esteroides presentes en la JR (Svoboda *et al.*, 1986). 10H2DA y 10HDA son los dos ácidos grasos más característicos de la JR (usados para autenticar este producto), juntos representan de 60 a 80 % de los ácidos orgánicos de la JR. 2DEA se encuentra presente en menor cantidad (Lercker *et al.*, 1982). Se ha reportado que 10H2DA tiene efectos antibacteriales, antitumorales, y actividades similares a la insulina (Pavel *et al.*, 2011). 10H2DA y 10HDA también promueven la producción de colágeno en los fibroblastos de la piel (Koya-Miyata *et al.*, 2004).

Administración de jalea real para mejorar las características reproductivas del macho

En estudios realizados con roedores machos, la administración de JR puede incrementar la producción de testosterona (Kohguchi *et al.*, 2004). La suplementación con JR mejora la motilidad espermática en ratones (Zahmatkesh *et al.*, 2014). En conejos, disminuye los efectos adversos causados por estrés calórico (Elnagar, 2010). La adición de 0.4% de JR al medio de capacitación espermática mejora la integridad acrosomal, motilidad espermática y tasa de fertilización de ovocitos de búfalo *in vitro* (Abd-Allah, 2012); la adición de diferentes porcentajes de JR (0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 %) en el medio de dilución de semen de carnero mejora la viabilidad, motilidad y velocidad progresiva (Moradi *et al.*, 2013).

Administración de JR en protocolos de sincronización de estros en ovejas

La administración de JR (250 mg d⁻¹) por vía oral o intramuscular a ovejas Awassi por 12 días (durante el protocolo de sincronización de estros), acortó el tiempo de inicio del estro (31 \pm 2.6 h), en comparación con las ovejas del grupo testigo (45 \pm 5.4 h), e incrementó el número de ovejas que respondieron a la sincronización a 80 %, con respecto al 40 % en el grupo testigo (Husein y Kridli, 2002). Kridli *et al.* (2003), reportan que con la administración de 250 g d⁻¹ de JR, por vía oral por 12 d incrementa el porcentaje de ovejas con signos de estro ($p < 0.05$) en comparación con

el grupo testigo (80 vs 40 %), además, el porcentaje de ovejas gestantes también mejoró con la administración de JR (60 % vs 20 %).

La aplicación de tres diferentes dosis de JR (250, 500 750 mg) por vía oral, durante un protocolo de sincronización de estros (12 días), mostró que no existen diferencias entre las tres diferentes dosis para la variable inicio de estro (Kridli y Al-Khetib, 2006). Las dosis de 500 y 750 mg mejoraron el tiempo de inicio a estro (49.6 ± 7 y 49.0 ± 8), en comparación con las ovejas que no recibieron JR (59.6 ± 7). Los resultados obtenidos con las dosis de 500 y 750 mg de JR en comparación con la administración de una dosis de 600 UI de eCG, no mostraron diferencias para las variables: inicio de estro, porcentaje de gestación y prolificidad (Kridli y Al-Khetib, 2006). Al comparar la respuesta de un protocolo de sincronización de estros en ovejas Awassi, con la aplicación de 12 dosis de JR de 400 mg d^{-1} (por vía oral), o la aplicación de 500 UI de eCG, se encontró resultados similares entre ambos tratamientos para las variables: respuesta a la sincronización, fertilidad o prolificidad, por lo que se considera que la JR es una alternativa al uso de eCG en ovejas de lana (Husein y Haddad, 2006).

Mostafa *et al.* (2008) encontraron que la aplicación de JR durante 21 días (inicio del tratamiento con JR al día 15 postparto) reduce los días entre el parto y el primer estro (33.30 ± 0.57 vs 44.80 ± 0.4) en ovejas Ossimi. La duración del estro se incrementó 10 h en promedio en las ovejas tratadas con JR (41 ± 0.42 vs 31 ± 0.31 h), posiblemente debido a la que la JR incrementa el número de folículos en crecimiento, así como los niveles de estradiol plasmático, necesarios para que la oveja manifieste signos de estro.

CONCLUSIONES

La JR ha demostrado ser una sustancia capaz de mejorar la respuesta reproductiva en diferentes especies. Estudios realizados con ovejas muestran que la administración de JR puede mejorar algunas variables reproductivas, por lo que es una alternativa de origen natural.

CAPÍTULO II. JALEA REAL Y SU EFECTO EN LA SINCRONIZACIÓN DE ESTROS EN OVEJAS DE PELO

RESUMEN

La jalea real (JR) la secretan abejas obreras por las glándulas craneales y es benéfica, para el aparato reproductivo de diferentes especies. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de dos dosis de JR (0.5 y 1.0 g por 3 d) al final de un protocolo de sincronización de estros, bajo la hipótesis de que la JR puede mejorar la respuesta reproductiva en ovejas de pelo. Las ovejas se sincronizaron con CIDR (Controlled Interl Drug Release) por 9 d y recibieron una dosis de prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) el día siete del protocolo. El diseño experimental fue completamente al azar y los tratamientos fueron asignados al azar a 79 ovejas: CIDR (testigo; n=20), CIDR + eCG (300 IU; n=20), CIDR + 0.5 g JR (n=20) y CIDR + 1.0 g JR (n=19). La JR se administró vía intramuscular los días 7, 8 y 9 del protocolo de sincronización. Las variables respuesta de estro, retorno a estro y porcentaje de gestación, se analizaron con el modelo de regresión logística; el inicio del estro con el método de tiempos de vida de Long Rank; y la fecundidad y prolificidad se analizaron por regresión Binomial Negativa. El tiempo al inicio del estro fue menor con eCG (21.1 ± 2.3) y después con JR 1.0 g (30.9 ± 1.2). El porcentaje de gestación, prolificidad y fecundidad fue similar en todos los tratamientos. La administración de un g de JR tres veces al final de un protocolo de sincronización acorta el tiempo de inicio al estro. El porcentaje de ovejas gestantes, fertilidad o prolificidad en ovejas tratadas con 0.5 y 1.0 g de JR por tres días es similar al obtenido con una dosis de 300 UI de eCG

Palabras clave: Oveja, jalea real, eCG, CIDR, estro, manejo reproductivo.

ABSTRACT

Royal jelly (JR) is secreted by the cephalic glands of working bees and is beneficial for the reproductive apparatus of different species. The objective of this study was to evaluate the effect

of two doses of JR (0.5 and 1.0 g per 3 d) at the end of an estrus synchronization protocol. The hypothesis was that the JR can improve the reproductive response in hair sheep. Sheep were synchronized with CIDR (Controlled Internal Drug Release) for 9 d and received a dose of prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}) on day 7. The experimental design was completely randomized and treatments were randomized to 79 sheep: CIDR (N = 20), CIDR + eCG (300 IU; n = 20), CIDR + 0.5 g JR (n = 20) and CIDR + 1.0 g JR (n = 19). JR was administered intramuscularly on days 7, 8 and 9 of the synchronization protocol. The variables of estrus response, estrus return and gestation percentage were analyzed with the logistic regression model, beginning of estrus was performed using the Long Rank method, fecundity and prolificacy ($P \leq 0.001$), the lowest time was obtained with eCG (21.1 ± 2.3) and then with JR 1.0 g (30.9 ± 1.2). The percentage of gestation, prolificacy and fecundity was similar among all treatments. One g of JR three times at the end of a synchronization protocol shorten the time from onset to estrus. The percentage of pregnant sheep, fertility or prolificacy in sheep treated with 0.5 and 1.0 g of JR for three days is similar to that obtained with a dose of 300 IU of eCG

Key words: Sheep, royal jelly, eCG, CIDR, estrus, reproductive management.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de protocolos de sincronización de estros permite manipular los eventos reproductivos con métodos naturales y hormonas exógenas (Abecia y Forcada, 2011), efectos socio-sexuales (Martín y Kadokawa, 2006), o su combinación. Sin embargo, el uso de hormonas se cuestiona en algunos países. Un caso es la gonadotropina coriónica equina (eCG), que se usa en protocolos de sincronización para promover el crecimiento folicular, y no está permitida en EE.UU. y países de la unión europea (Abecia y Forcada, 2011). Además, administraciones repetidas de

eCG conducen a la producción de anticuerpos anti-eCG, con lo que disminuye su efectividad (Bodin *et al.*, 1997; Hervé *et al.*, 2004).

La jalea real (JR) es secretada por las glándulas cefálicas de las abejas obreras jóvenes, es el componente más importante de la dieta de las larvas y su consumo determina la diferenciación de castas (Kamakura, 2011). El consumo de JR mejora la fertilidad en humanos (Abdelhafiz y Muhamad, 2008), conejos macho (Elnagar, 2010) y ratas macho (Hassan, 2009). La adición de 0.4 % de JR al medio de capacitación espermática mejora la integridad acrosomal, motilidad espermática y tasa de fertilización de ovocitos de búfalo *in vitro* (Abd-Allah, 2012); la adición de 0.5, 1.0, 1.5 o 2.0 % de JR en el medio de dilución de semen de carnero mejora la viabilidad, motilidad y velocidad progresiva (Moradi *et al.*, 2013). En ovejas de lana, la aplicación de esta sustancia acorta el tiempo de inicio de estro y mejora la proporción de ovejas que exhiben signos de estro (Husein y Kridli, 2002), por lo que el uso de JR puede ser una alternativa natural al uso de hormonas exógenas. Con base en lo anterior, el propósito de este estudio fue evaluar la aplicación de dos dosis diferentes de JR vía intramuscular, en un protocolo de sincronización de estros en ovejas de pelo, bajo la hipótesis de que la JR puede mejorar la respuesta reproductiva en ovejas de pelo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación

El estudio se realizó de junio a diciembre de 2014, en el Laboratorio de Reproducción en Ovinos y Caprinos (LaROCa) del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, en el Estado de México, en 19°29' N y 98°53' O, a 2250 m de altitud, en clima templado subhúmedo con lluvias en verano (García, 1988).

Animales experimentales

Para este estudio se usaron 79 ovejas de pelo, edad de 4.1 ± 0.9 años y peso promedio de 55 ± 10.2 kg; además fueron desparasitadas (Closantel®, 10 mg kg⁻¹, Chinoín) y recibieron una dosis de selenito de sodio (0.25 mg kg⁻¹ Mu-se ®, Schering-Ploug) 30 d antes de iniciar el experimento. El manejo profiláctico de los 10 carneros usados para detectar estros y montar a las ovejas, fue similar al de las ovejas, y se les evaluó la libido y calidad del semen.

Alojamiento y alimentación

Las ovejas permanecieron en corrales de 40 m² de provistos de sombra y sol, comederos y agua a libre acceso, respetando su espacio vital.

Las ovejas recibieron una dieta que cubría sus requerimientos nutricionales. El alimento proporcionado fue 1.0 kg oveja⁻¹ de heno (70 % heno de avena, 30 % heno de alfalfa) por la mañana (8:00 am) y 0.5 kg oveja⁻¹ de concentrado comercial (15 % proteína cruda y 2.5 Mcal EM) por la tarde (4:00 pm).

Jalea real

La JR se obtuvo de la empresa Miel-hitaa® (Oaxaca) y se mantuvo a -20 °C hasta su uso. Los días 7, 8 y 9 del experimento se diluyó (0.5 g mL⁻¹) en solución salina fisiológica 0.9 % (Pisa ® Farmacéutica), para facilitar su administración intramuscular a las ovejas.

Protocolo de sincronización

La sincronización de estros en todas las ovejas se realizó con la inserción de un dispositivo intravaginal de liberación de progesterona con 0.3 g (CIDR, Zoetis®) los días 0 a 9 del protocolo. El día 7 después de colocar el CIDR, todas las ovejas recibieron 5 mg de trometamina de dinoprost (prostaglandina F_{2α}, Zoetis®). Las ovejas del tratamiento CIDR + eCG recibieron 300 UI de eCG, vía IM, 48 h antes de retirar el CIDR. Las ovejas del tratamiento CIDR + JR 0.5 g recibieron 1 mL

de la solución de JR, y las ovejas del tratamiento CIDR + JR 1.0 g recibieron 2 mL de la solución de JR, por vía IM.

Diseño experimental y tratamientos

El diseño experimental fue completamente al azar y los tratamientos fueron:

Tratamiento 1: (CIDR; testigo n=20): sincronización de estro con dispositivo intravaginal de liberación de progesterona (CIDR, Zoetis), por 9 d, y aplicación de prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$), el día 7 después de la inserción de CIDR.

Tratamiento 2: (CIDR + eCG; n=20): T1 + administración de 300 IU de eCG 48 h antes del retiro del CIDR.

Tratamiento 3: (CIDR + JR 0.5; n=20): T1 + la aplicación de 1.5 g de JR (50 % de la dosis menor reportada en ovejas de lana por Husein y Kridli, 2002), dividida en tres dosis iguales de 0.5 g, administrada a las ovejas - 48, -24 y 0 h del retiro del CIDR.

Tratamiento 4: (CIDR + JR 1.0; n=19): T1 + administración de 3.0 g de JR (dosis reportada por Husein y Kridli, 2002), dividida en tres dosis iguales, administrada a las ovejas - 48, -24 y 0 h del retiro del CIDR.

Detección de estros

La detección de estros se realizó cada 4 h después del retiro del CIDR, durante 30 min, con un carnero provisto de mandil. Las ovejas que manifestaron signos externos de estro se separaron del grupo para recibir monta natural. Doce h después de la primera monta cada oveja recibió una segunda monta. El retorno al estro se determinó al exponer a las ovejas a un carnero con mandil por 30 min cada 12 h, durante el siguiente ciclo estral (20 días posteriores al estro inducido).

Diagnóstico de gestación

Se consideró como ovejas gestantes al día 20 a aquellas que no retornaron a estro en el ciclo posterior al estro inducido. Al día 50 post inseminación se realizó diagnóstico de gestación por ecografía abdominal, 50 d después del servicio, con un equipo portátil USM CTS- 900 y un transductor convexo de 3.5-7 Mhz (Shantou Institute of Ultrasonic Instruments).

Variables evaluadas

Respuesta a estro: porcentaje de ovejas que mostraron signos externos de estro. Inicio de estro: tiempo transcurrido (h) a partir del retiro del CIDR, hasta la manifestación de signos de estro. Retorno a estro: porcentaje de ovejas que mostraron signos de estro durante el periodo evaluado después de la monta natural. Porcentaje de gestación: número de ovejas que resultaron positivas al diagnóstico de gestación que no retornaron a estro, multiplicado por 100. Fecundidad. Número de corderos nacidos entre el número total de ovejas en el tratamiento. Prolificidad. Número de corderos nacidos respecto al número de ovejas paridas de cada tratamiento.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con el software SAS 9.3 (SAS, 2012). El análisis para inicio de estro se realizó con el método de tiempos de vida de Long Rank, con el procedimiento LIFETEST de SAS. Las diferencias entre tratamientos se determinaron con la prueba de Bonferroni. Las variables respuesta de estro, retorno a estro y porcentaje de gestación, se analizaron con el modelo de regresión logística usando la rutina PROC LOGISTIC. Para el análisis de fecundidad y prolificidad, se utilizó regresión Binomial Negativa, con el procedimiento GENMOD.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Respuesta a sincronización e inicio al estro

La respuesta a estro en los tratamientos T1, T2 y T3 fue de 100 % y de 94.1 % para T4. Este resultado mostró la eficiencia del protocolo de sincronización con CIDR y una dosis de PGF_{2α}, para homogenizar el estado ovárico de las ovejas (Cuadro 1).

Cuadro 1. Porcentaje de ovejas de pelo que manifestaron estro y tiempo de inicio de éste durante un protocolo de sincronización de estros con la aplicación de dos dosis diferentes de jalea real (JR).

Tratamiento	(n)	Respuesta a estro (%)	Inicio al estro (h)
T1: CIDR	20	100	36.1 ± 2.6 ^c
T2: CIDR + eCG	20	100	21.1 ± 2.3 ^a
T3: CIDR + 0.5 g JR	20	100	33.6 ± 2.1 ^{bc}
T4: CIDR + 1.0 g JR	19	94.7	29.2 ± 1.3 ^b

^{a, b, c} Valores con diferente letra en una columna son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.001$). T= tratamiento; CIDR= Controlled Internal Drug Release.

El tiempo de inicio a estro fue diferente ($p \leq 0.001$) entre tratamientos (Cuadro 1). El menor tiempo de respuesta se obtuvo con la aplicación de 300 UI de eCG (T2), seguido del obtenido en el grupo JR 1.0 (T4), no se encontraron diferencias entre los tratamientos CIDR (T1) y JR 0.5 g (T3). En ovejas Awassi, la administración de 12 dosis de 250 mg de JR (dosis total 3.0 g) por vía oral (capsulas) o IM (Husein y Kridli, 2002) acertó el tiempo de inicio a estro (31.9 ± 4 y 31.7 ± 3.7 h, respectivamente), en comparación con el grupo que no recibió JR (45 ± 5.6), este resultado es similar al encontrado en este estudio con la dosis de 1.0 g de JR por vía IM. El tratamiento con

la dosis de 0.5 g de JR utilizado en este estudio no modificó el tiempo de inicio de estro, por lo que es posible que la dosis y duración del tratamiento fuera insuficiente para modificar esta variable.

En este estudio, las ovejas que recibieron eCG mostraron signos de estro en un menor tiempo (21.1 ± 2.3), lo cual difiere de lo reportado por otros investigadores, de un tiempo de inicio a estro de 29.3 ± 2.2 (Husein y Ghozlan, 2007) y 29.8 ± 2.1 (Husein y Haddad, 2006), con una dosis de 500 UI de eCG en ovejas Awassi. Al respecto, la eCG tiene actividad similar a FSH y LH (Murphy, 2012) por lo que es capaz de promover el crecimiento folicular, la producción de estradiol y un menor tiempo de inicio a estro (Abecia y Forcada, 2011). La JR también exhibe actividad estrogénica, mediada por la interacción con los receptores de estrógenos, modifica la expresión génica y proliferación celular *in vivo* e *in vitro* (Mishima *et al.*, 2005), lo cual podría explicar el menor tiempo de inicio a estro en las ovejas a las que se les administró 1.0 g de JR d^{-1} , en comparación con aquellas del grupo CIDR (T1). La administración de JR a ovejas sincronizadas con CIDR permitió homogenizar la respuesta a estro (Figura 1) y facilita la inseminación artificial a tiempo fijo.

Retorno a estro y porcentaje de gestación

El porcentaje de ovejas que retornaron a estro no fue diferente ($p > 0.05$) entre tratamientos (Cuadro 2), lo cual puede estar relacionados con las fallas en la ovulación, fertilización, o implantación embrionaria (Bari *et al.*, 2003); así como a factores inherentes al embrión, como anomalías cromosómicas; o relacionadas con el ambiente uterino, por una inadecuada función del CL (Bilodeau-Goeseels y Kastelic, 2003), y puede explicar el resultado similar entre tratamientos.

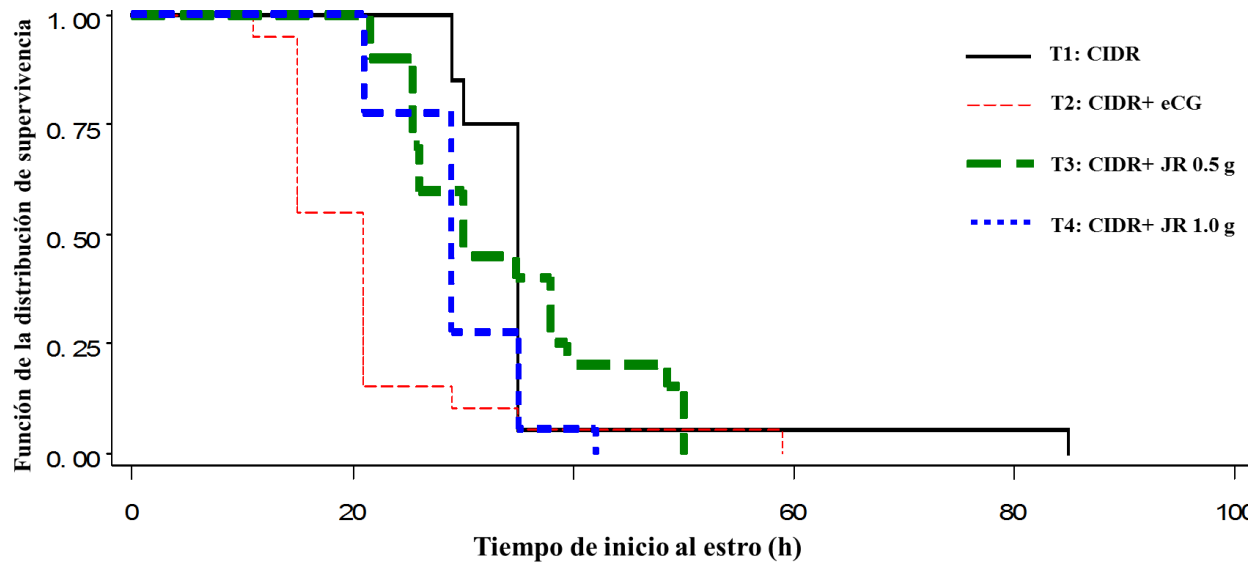


Figura 1. Curvas de supervivencia de tiempo de inicio al estro en ovejas de pelo sincronizadas con CIDR y administración de dos dosis de JR vía IM.

No hubo diferencias en porcentaje de gestación al día 20 y 50 después de inseminar. Se observó disminución numérica de ovejas gestantes al día 50 en todos los tratamientos (Cuadro 2, lo cual sugiere la existencia de muerte embrionaria tardía o muerte fetal, tal como se observó en ovejas de lana (Dorset y Suffolk), entre el día 25 y 45 de la gestación el 3.8 % de las ovejas pierden uno o más embriones, valor que se incrementó a 6.2 % entre los días 45 a 65 (Dixon *et al.*, 2007). Los anteriores resultados estuvieron asociados a tasa ovulatoria y concentraciones de estradiol elevadas en el día 25 de la gestación. De las ovejas consideradas como gestantes al día 20, en T1 y T2, 5 % resultó negativo al diagnóstico realizado al día 50, lo cual es similar al reportado por Dixon *et al.* (2007) para pérdidas embrionarias tardías y fetales. A su vez, en las ovejas tratadas con JR el porcentaje de ovejas gestantes al día 50 disminuyó en 10 % para T3 y 21.1 % para T4, valor que difiere a lo reportado por Husein y Haddad (2006).

Cuadro 2. Porcentaje de retorno al estro y gestación en ovejas de pelo sincronizadas con CIDR y administración de dos dosis de JR vía IM.

Tratamiento	Ovejas en estro (n)	Retorno a estro		Ovejas gestantes d 20 [†]		Ovejas gestantes d 50 [‡]	
		(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)
T1: CIDR	20	3	15	17	85	16	80
T2: CIDR+eCG	20	7	35	13	65	12	60
T3: CIDR+ 0.5 g JR	20	7	35	13	65	11	55
T4: CIDR+ 1.0 g JR	18	1	5.5	16	84.2	12	63.1

No hubo diferencias significativas ($p > 0.05$). T= tratamiento; CIDR= Controlled Internal Drug Release. [†]Determinada por no retorno a estro. [‡]Determinada por ecografía.

Kridli *et al.* (2003) reportan que la administración a ovejas Awassi de 3.0 g de JR, dividida en 12 dosis iguales por vía oral, incrementa el porcentaje de gestación a 60 %, en comparación con el 20 % de gestación en el grupo testigo ($p < 0.10$). Husein y Haddad (2006) mencionan que la administración de 12 dosis de JR de 400 mg d⁻¹, vía IM, disminuyó el porcentaje de retorno a estro (28.6 %) y aumentó el porcentaje de gestación (71.4 %), en comparación con el grupo testigo (57.1 y 42.9 %, respectivamente). Además, el resultado obtenido con la aplicación de JR fue similar al producido por eCG (14.3 y 85.7 %; Husein y Haddad, 2006). Los resultados anteriores sugieren que la dosis de 0.5 g y el periodo de aplicación de JR fueron insuficientes para lograr un efecto positivo en estas variables. La dosis de 3.0 g, similar a la reportada en ovejas Awassi (Husein y Kridli, 2002; Kridli *et al.*, 2003) tampoco incrementó el porcentaje de gestación, e indica que la dosis y periodo de tratamiento con JR en este estudio fueron insuficientes para mejorar la respuesta en estas variables.

Fecundidad y prolificidad

La fecundidad y prolificidad no fueron estadísticamente diferentes ($p > 0.05$) entre tratamientos (Cuadro 3). Kridli *et al.* (2003) reportan una fecundidad de 1.0 ± 0.15 , idéntica a la del grupo testigo, con la aplicación de 3.0 g de JR administrada en 12 dosis iguales, por vía oral. Husein y Haddad (2006) tampoco encontraron diferencias para fecundidad entre los tratamientos de JR (0.9 ± 0.2) y la administración de eCG (1.2 ± 0.2), por lo que sugieren que el efecto de la administración de JR es similar al producido por eCG.

Cuadro 3. Fecundidad y prolificidad en ovejas de pelo sincronizadas con CIDR y administración de dos dosis de JR vía IM.

Tratamiento	Ovejas paridas		Corderos nacidos	Fecundidad	Prolificidad
	(n)	(%)			
T1: CIDR	16	80	29	1.3	1.7±0.1
T2: CIDR+eCG	12	60	23	1.2	1.7±0.1
T3: CIDR+ 0.5 g JR	11	55	17	1.0	1.7±0.2
T4: CIDR+ 1.0 g JR	12	63.1	22	0.9	1.6±0.0

No hubo diferencias significativas ($p > 0.05$). T= tratamiento; CIDR= Controlled Internal Drug Release.

La prolificidad está relacionada con la tasa de ovulación (Scaramuzzi *et al.*, 2011), la cual puede ser influida por factores genéticos (Davis, 2005) y ambientales, como la nutrición (Ashworth *et al.*, 2009), por lo que es altamente variable entre razas y condiciones de manejo. Uno de los efectos reportados con la administración de la eCG es el incremento en tasa de ovulación (Murphy, 2012) y prolificidad (Abecia y Forcada, 2011). Sin embargo, Husein y Haddad (2006) y Kridli y Al-

Khetib (2006) no reportan diferencias estadísticas para prolificidad entre ovejas tratadas con eCG o JR (Kridli y Al-Khetib, 2006).

CONCLUSIONES

La administración de 1.0 g de JR disminuye el tiempo de inicio del estro y no afecta el porcentaje de ovejas gestantes, fertilidad o prolificidad, de manera similar al obtenido con gonadotropina coriónica equina (eCG), por lo cual el uso de jalea real es una opción para lograr una producción animal limpia.

CAPÍTULO III. RESTRICCIÓN DEL AMAMANTAMIENTO Y ADMINISTRACIÓN DE JALEA REAL EN OVEJAS DE PELO

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar dos modalidades de amamantamiento y aplicación de jalea real (JR), en ovejas pelibuey postparto. El diseño experimental fue completamente al azar con arreglo factorial de dos niveles de amamantamiento: continuo y controlado; y dos niveles de JR: con JR ó sin JR. Se utilizaron 48 ovejas de la raza pelibuey, con promedio de 3 partos, distribuidas en cuatro tratamientos de 12 ovejas cada uno. El control del amamantamiento inició al día 10 postparto (PP), y al d 21 PP a todas las ovejas se les colocó un dispositivo intravaginal con progesterona CIDR (Controlled Interl Drug Release) que permaneció por nueve d. Al día 27 PP, se administró prostaglandina a todas las ovejas. La JR se administró intramuscularmente (1.0 g d⁻¹) los nueve d del tratamiento con progesterona. El peso de ovejas y corderos se analizó con medidas repetidas; la respuesta de estro, retorno y porcentaje de gestación, con regresión logística; inicio y duración del estro, con tiempos de vida de Long Rank; fecundidad y prolificidad por regresión Binomial Negativa. La ganancia de peso de los corderos fue diferente entre tratamientos ($p < 0.05$). 97.9 % de las ovejas respondieron al protocolo de inducción del estro. La duración del estro fue mayor ($p < 0.05$) con JR (51.1 ± 2.2 h y 47.6 ± 2.5 h). El inicio al estro, retorno, tasa de ovulación, parición, fecundidad y prolificidad fueron similares ($p > 0.05$) entre tratamientos. Al d 35 PP, se gestaron 50 % de las ovejas y 81 % al d 55 PP. Nueve aplicaciones de 1.0 g de JR incrementaron la duración del estro en ovejas pelibuey, por lo que el efecto de esta sustancia podría ser aprovechado en protocolos de manejo reproductivo.

Palabras clave: oveja, jalea real, amamantamiento controlado, postparto, inducción de estros.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate two suckling modalities and application of royal jelly (JR), in postpartum pelibuey sheep. The experimental design was completely randomized with factorial arrangement of two levels of suckling: continuous and controlled; And two levels of JR: with and without. 48 pelibuey ewes, with an average of 3 parturition, were distributed in four treatments of 12 sheep each. Control suckling started at day 10 postpartum (PP), and at d 21 PP all the ewes received an intravaginal device with progesterone CIDR (Controlled Internal Drug Release) that remained for nine d. At day 27 PP, prostaglandin was administered to all sheep. The JR was administered intramuscularly (1.0 g d⁻¹) at nine d of the progesterone treatment. The weight of sheep and lambs was analyzed with repeated measures; estrus response, return and percentage of gestation, with logistic regression; onset and duration of estrus, with life times of Long Rank; fecundity and prolificacy by negative binomial regression. The weight gain of the lambs was different between treatments ($p < 0.05$). 97.9% of the sheep responded to the protocol of induction of estrus. The duration of estrus was greater ($p < 0.05$) with JR (51.1 ± 2.2 h and 47.6 ± 2.5 h). The onset of estrus, return, ovulation rate, parity, fecundity and prolificacy were similar ($p > 0.05$) between treatments. At d 35 PP, 50% of the sheep were born and 81% at 55 d. Nine applications of 1.0 g of JR increased the duration of estrus in pelibuey sheep, so the effect of this substance could be used in reproductive management protocols.

Key words: Sheep, royal jelly, controlled breastfeeding, postpartum, estrus induction

INTRODUCCIÓN

En la producción ovina, es posible mejorar la producción de corderos al mejorar las variables reproductivas. Acortar el intervalo entre partos y reestablecer la actividad reproductiva cíclica lo más pronto después del parto, para que la oveja vuelva a quedar gestante es uno de los retos en

manejo reproductivo (Ungerfeld y Sanchez-Davila, 2012; Ascari *et al.*, 2016). El amamantamiento es uno de los principales estímulos que disminuye la actividad reproductiva durante el anestro postparto (Ronquillo *et al.*, 2008), al inhibir, en el hipotálamo vía los opioides endógenos, la secreción de la GnRH (Arroyo *et al.*, 2009). En ovejas, reducir el amamantamiento y el contacto de la oveja con el cordero, a dos periodos de 30 min por día, reduce el intervalo parto primera ovulación (Morales *et al.*, 2004). Por consiguiente, la estrategia de amamantamiento controlado es una alternativa viable para reactivar el eje reproductivo después del parto (Ronquillo *et al.*, 2008), sin afectar el crecimiento de los corderos (Pérez-Hernández *et al.*, 2009).

Entre las estrategias de manejo reproductivo “limpias, verdes y éticas” utilizadas en ovinos durante el periodo postparto se encuentran la restricción del amamantamiento y el uso de efectos socio-sexuales (efecto macho), en conjunto con el uso combinado de nutrición focalizada o estratégica (Martin, 2009), con suplementos que contenga compuestos bioactivos (Delgadillo y Martin, 2015) o modifiquen las concentraciones de hormonas metabólicas (Scaramuzzi *et al.*, 2006) para mejorar el desempeño reproductivo (Martin *et al.*, 2004; Viñoles *et al.*, 2009; Gutierrez *et al.*, 2011). La jalea real (JR) es una sustancia secretada por las glándulas craneales de abejas obreras (*Apis mellifera*) que administrada a diferentes especies como: conejos (Elnagar, 2010), ratas (Salem, 2013) y ovejas (Husein y Haddad, 2006) puede mejorar las características reproductivas (Pavel *et al.*, 2011). En ovejas Awassi, se reportó un efecto positivo de la aplicación de JR por vía oral o intramuscular en las variables reproductivas como incidencia de estro, tiempo de inicio de estro y tasa de gestación (Husein y Kridli, 2002). El uso de JR también ha mostrado resultados positivos al ser aplicada durante el periodo postparto (Mostafa *et al.*, 2008), al disminuir el intervalo entre el parto y el reinicio de la actividad ovárica. No se conoce si al administrarla a ovejas puede potencializar los efectos benéficos observados con la restricción del amamantamiento a periodos cortos del día. Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar dos modalidades

de amamantamiento y la aplicación de nueve dosis de 1.0 g de JR en ovejas pelibuey en el postparto temprano, durante un protocolo de inducción al estro con CIDR. La hipótesis planteada fue que la JR y el control del amamantamiento pueden mejorar la respuesta a un protocolo de inducción de estros en el postparto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación

El estudio se realizó de diciembre de 2014 a junio de 2015 en el Laboratorio de Reproducción en Ovinos y Caprinos (LaROCa) del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, estado de México, localizado en las coordenadas 19°29' N y 98°53' O, a una altitud de 2250 m, en un clima templado subhúmedo con lluvias en verano (García, 1988).

Animales experimentales

Para este estudio se usaron 48 ovejas pelibuey paridas, edad de 4.1 ± 1 años, 3 ± 1 partos y peso promedio al parto de 61.4 ± 9.9 kg. Durante la gestación las ovejas se mantuvieron aisladas de los sementales. Las ovejas se desparasitaron con Closantel® (10 mg kg⁻¹ (Chinoin) y recibieron 0.25 mg kg⁻¹ de selenito de sodio (Mu-se ®, Schering-Ploug), como parte del manejo profiláctico, un mes previo al parto. El manejo profiláctico de los 10 carneros utilizados para detectar estros y aparear a las ovejas fue similar al de las ovejas. Además, los carneros fueron evaluados de libido y calidad seminal.

El protocolo de manejo de los corderos recién nacidos incluyó desinfección del ombligo con una solución de yodo metálico al 5 %, aplicación de 2 mL de Metabolase® (Laboratorio Schutze-Segen) y administración de selenito de sodio (0.25 mg kg⁻¹ Mu-se ®, Schering-Ploug), ambos por vía subcutánea. Todos los corderos recibieron alimento iniciador (con 20% de PC y 2.7 Mcal de

EM) a partir del día 10 después del nacimiento y se mantuvieron en corrales provistos de comedero y agua a libre acceso.

Alojamiento y alimentación

Las ovejas de cada modalidad de amamantamiento (n=24) permanecieron en un corral de 40 m², provisto de sombra y sol, comederos y agua a libre acceso, respetando su espacio vital. Las ovejas recibieron una dieta que cubría sus requerimientos nutricionales. El alimento proporcionado fue 1.0 kg oveja⁻¹ de heno (70 % heno de avena, 30 % heno de alfalfa) por la mañana (8:00 am) y 0.5 kg oveja⁻¹ de concentrado comercial (15 % proteína cruda y 2.5 Mcal EM) por la tarde (4:00 pm).

Amamantamiento

Todas las ovejas y sus respectivos corderos permanecieron juntos desde el momento del nacimiento hasta el día diez después del parto, cuando las ovejas y sus corderos se asignaron al azar a una de dos modalidades de manejo: **Amamantamiento continuo** (n = 24) que consistió en mantener juntos a las ovejas y sus respectivos corderos, hasta el momento del destete, y **Amamantamiento controlado** (n=24) en el que las ovejas permanecieron en contacto con los corderos 30 min en la mañana y 30 min en la tarde hasta el d 56, momento en que se realizó el destete.

Jalea real

La JR para este estudio se obtuvo de la empresa Miel-hitaa® (Oaxaca) y se mantuvo a -20 °C hasta su uso. La JR se diluyó (0.5 g mL⁻¹) en solución salina fisiológica 0.9 % (Pisa ® Farmacéutica), para facilitar su administración intramuscular (IM) a las ovejas de los tratamientos T2 (ACJR) y T4 (AcJR).

Diseño experimental y tratamientos

El diseño del protocolo experimental fue completamente al azar. Dos factores fueron evaluados a dos niveles: amamantamiento (continuo y controlado) y aplicación de JR (con y sin) en un arreglo factorial 2*2, de esta combinación se obtuvieron los cuatro tratamientos siguientes:

Amamantamiento continuo (AC; n=12): ovejas en amamantamiento continuo y sincronización de estro con dispositivo intravaginal de liberación de progesterona (CIDR, Zoetis), por nueve días, y aplicación prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$), el día 7 después de la inserción de CIDR.

Amamantamiento continuo con jalea real (ACJR; n=12): similar a AC + nueve aplicaciones diarias de 1.0 g de JR, durante el tratamiento con progesterona.

Amamantamiento controlado (Ac; n=12): ovejas en amamantamiento controlado y sincronización de estro con dispositivo intravaginal (CIDR), por nueve días, y aplicación prostaglandina $F_{2\alpha}$, el día 7 después de la inserción de CIDR.

Amamantamiento controlado con jalea real (AcJR; n=12): similar a AR + nueve aplicaciones diarias de 1.0 g de JR, durante el tratamiento con progesterona.

Protocolo de sincronización

La sincronización de estros se inició el día 21 PP (Figura 1), con la inserción de un dispositivo intravaginal con 0.3 g de progesterona (CIDR, Zoetis®) por nueve días (0 a 9 del protocolo). El día 27 PP, a las ovejas de todos los tratamientos se les administró 5 mg de trometamina de dinoprost (prostaglandina $F_{2\alpha}$, Zoetis®) por vía IM. Las ovejas de los tratamientos con jalea real, Amamantamiento continuo + jalea real (ACJR) y Amamantamiento controlado + jalea real (AcJR), recibieron nueve aplicaciones diarias de 1.0 g de JR (dilución 0.5 g mL⁻¹) por vía IM durante la permanencia del CIDR.

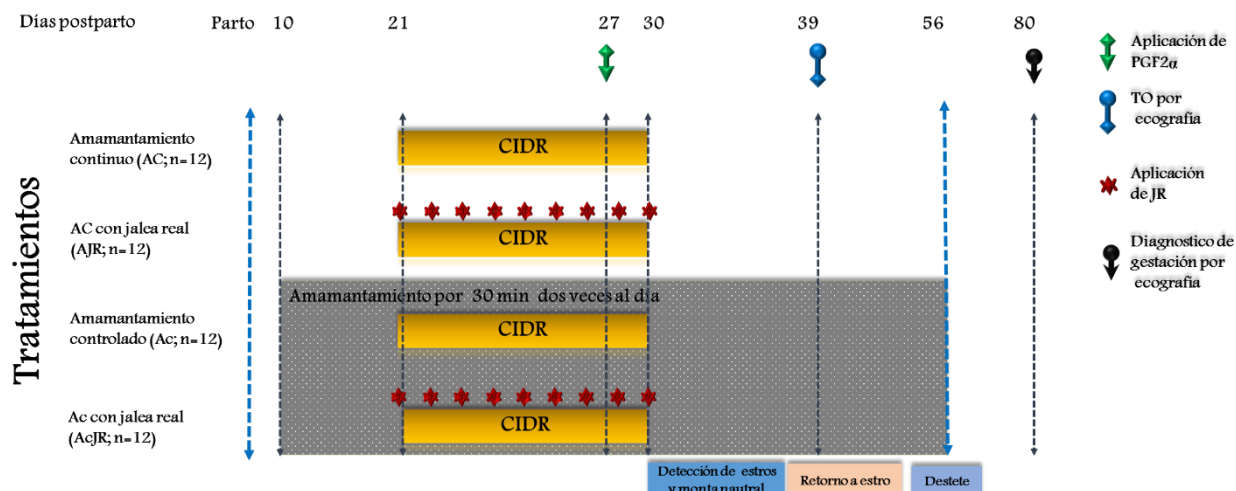


Figura 1. Esquema de protocolo experimental. AC= 24 h d⁻¹; Ac = dos periodos de 30 min d⁻¹. JR= nueve dosis de 1.0 g d⁻¹. CIDR (controled Internal Drug reléase) por 9 d. TO = tasa de ovulación.

Detección de estros

La detección de estros se realizó cada 4 h después del retiro del CIDR, durante 30 min, con un carnero provisto de mandil. Las ovejas que manifestaron signos externos de estro se separaron del grupo para recibir monta natural. Doce horas después de la primera monta, cada oveja recibió una segunda monta. El retorno al estro se determinó introduciendo un carnero con mandil al corral de las ovejas por 30 min cada 12 h, durante el siguiente ciclo estral, 20 días posteriores al estro inducido.

Tasa de ovulación

Todas las ovejas se evaluaron para conocer la tasa de ovulación, 8 días después de ser apareadas, mediante ecografía trans-rectal con un equipo Sono Vet Pico (Medison®) y un transductor lineal de 7.5 mHz.

Diagnóstico de gestación

El diagnóstico de gestación de las ovejas se realizó por ecografía abdominal, al día 80 PP, con un equipo portátil USM CTS- 900 y un transductor convexo de 3.5-7 Mhz (Shantou Institute of Ultrasonic Instruments).

Variables evaluadas

Cambio de peso de las ovejas durante el postparto: determinado semanalmente por el peso de las ovejas de cada tratamiento, desde el día del parto al día 63 PP. Cambio de peso corporal de corderos: determinado semanalmente por el peso de los corderos de cada tratamiento, del nacimiento al día 63. Respuesta a estro: es el porcentaje de ovejas que mostraron signos externos de estro. Inicio de estro: es el tiempo transcurrido (h) a partir del retiro del CIDR, hasta la manifestación de signos de estro. Duración del estro: es el tiempo transcurrido en horas a partir del inicio de estro al término de estos (inmovilidad en presencia del macho, aceptar la monta). Tasa de ovulación: número de cuerpos lúteos en ambos ovarios, observados por ecografía trans-rectal. Retorno a estro: es el número de ovejas que mostraron signos de estro durante el periodo evaluado después de la monta natural con respecto al número total de ovejas x 100. Ovejas gestantes al día 35 PP: es el número de ovejas que resultaron positivas al diagnóstico de gestación y no retornaron a estro después del protocolo de inducción, iniciado al día 21 postparto, multiplicado por 100. Ovejas gestantes al día 55 PP: es el número de ovejas que resultaron positivas al diagnóstico de gestación, incluidas aquellas que retornaron al estro, multiplicado por 100. Número de ovejas paridas: son las ovejas paridas con respecto al total de ovejas en cada tratamiento x 100. Fecundidad, número de corderos nacidos entre el número total de ovejas en el tratamiento. Prolificidad, es el número de corderos nacidos respecto al número de ovejas paridas de cada tratamiento.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con el software SAS 9.3 (SAS, 2012). Se utilizó un diseño completo aleatorizado con un arreglo 2^2 , en el cual se incluyeron dos factores, A: 'tipo de amamantamiento' y B: 'aplicación de JR', cada uno a dos niveles, la combinación entre los niveles de ambos factores, generó los cuatro tratamientos.

Los cambios de peso corporal en ovejas y corderos se analizaron utilizando un modelo de medidas repetidas, con el procedimiento MIXED/SAS. El análisis para inicio y duración del estro se realizó utilizando la prueba de Long Rank, con el procedimiento LIFETEST/SAS. Las variables de respuesta de estro, retorno a estro y número de ovejas gestantes, se analizaron con el modelo de regresión logística usando el procedimiento PROC LOGISTIC/SAS. Para el análisis de tasa de ovulación, fecundidad y prolificidad, se utilizó regresión Binomial Negativa, con el procedimiento GENMOD/SAS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cambio de peso de las ovejas durante el postparto

Se encontraron diferencias estadísticas ($p > 0.05$) para el cambio de peso de las ovejas entre periodos de observación (Figura 2). En este estudio, las ovejas de los cuatro tratamientos perdieron peso durante la lactancia, al destete, las ovejas perdieron en promedio 3.5 kg de peso corporal.

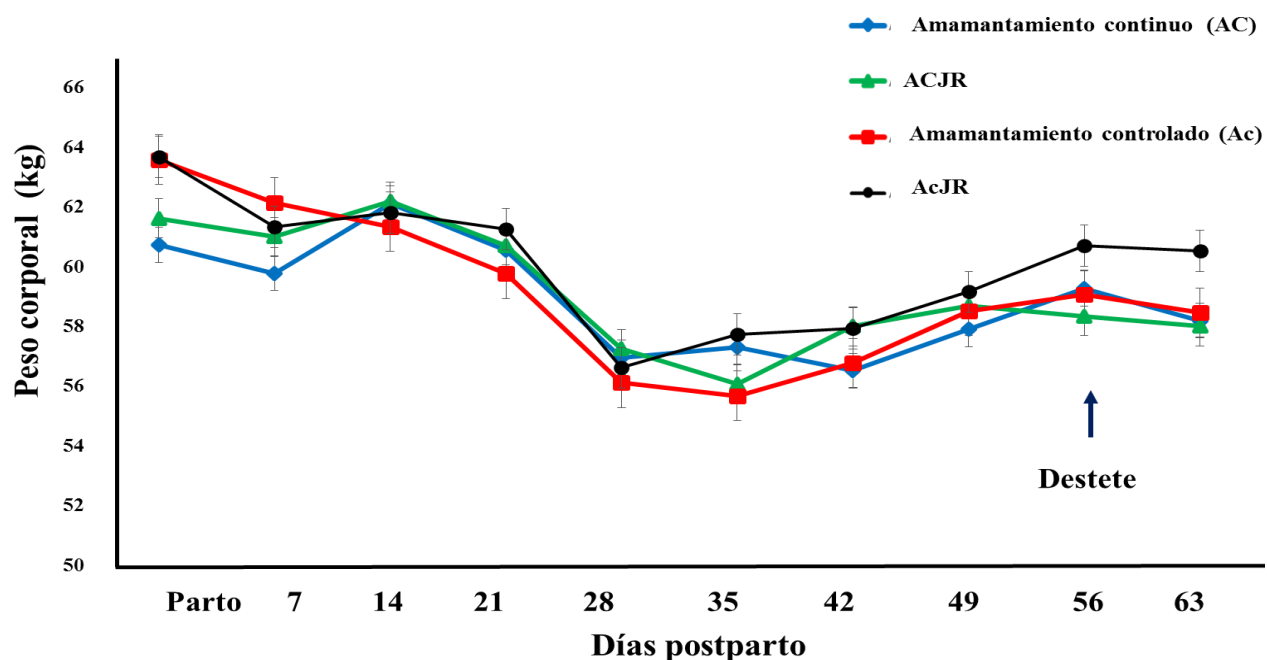


Figura 2. Cambio de peso corporal en ovejas pelibuey postparto con dos modalidades de amamantamiento y aplicación de jalea real.

En las ovejas, un aporte insuficiente de energía reduce la fertilidad, provoca una menor producción de leche, reducción del período de lactancia, pérdida de peso y mayor susceptibilidad al parasitismo (Herrera *et al.*, 2010). Las ovejas que se mantienen todo el día con los corderos suelen perder más peso que aquellas en amamantamiento controlado (Pérez-Hernández *et al.*, 2009). En el caso de existir un balance energético negativo, la oveja moviliza sus reservas corporales para cubrir el requerimiento energético de mantención y para las funciones productivas de gestación y lactancia (Herrera *et al.* 2010). Las ovejas alcanzan la máxima producción de leche

entre la tercera y cuarta semana de lactación (Romero y Bravo, 2012). En este estudio, la mayor pérdida de peso corporal en las ovejas se observó entre los días 28 y 35 PP (Figura 2). Lo anterior indica que la dieta ofrecida a las ovejas no cubrió los requerimientos energéticos (5.41 kcal EM) y proteicos (13-14 % PC) para la producción de leche (Romero y Bravo, 2012).

Cambios de peso corporal de los corderos

El peso de los corderos fue diferente ($p \leq 0.05$) entre periodos de observación (Figura 3). Pérez-Hernández *et al.* (2009) reportan diferencias del peso entre corderos en AC y Ac a partir de los 28 d de edad; mientras que Castillo-Maldonado *et al.* (2013) encontraron diferencias en peso, entre corderos en AC y Ac después del día 41. En este estudio, las diferencias de peso entre corderos en ACJR y AcJR se observaron a partir del día 49 de edad. El peso promedio de los corderos al destete fue 16.5 kg y no se observó un efecto negativo del destete en la ganancia de peso la semana posterior al destete, similar a lo reportado por Fraire-Cordero (2015).

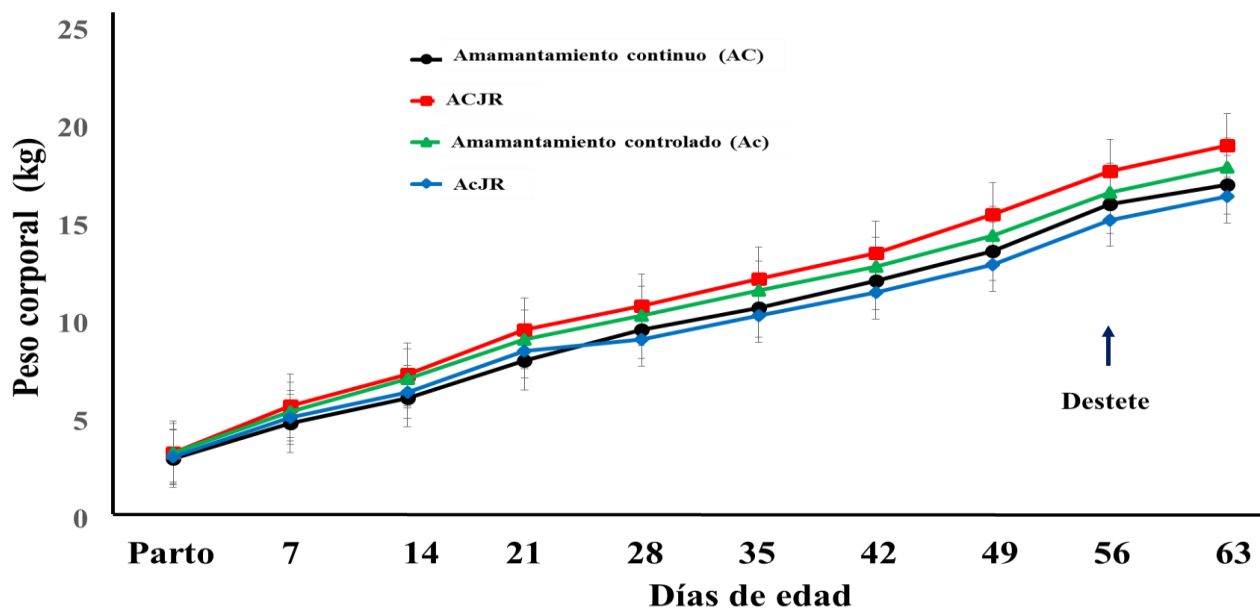


Figura 3. Cambio de peso corporal en corderos pelibuey mantenidos en dos modalidades de amamantamiento y administración de jalea real a las madres.

Respuesta al protocolo de inducción, inicio y duración del estro

La variable respuesta de estro no fue diferente entre tratamientos ($p > 0.05$). Del total de ovejas en el experimento, solo una oveja del grupo de amamantamiento continuo sin aplicación de JR no respondió al protocolo (Cuadro 1).

Cuadro 1. Porcentaje de ovejas pelibuey que manifestaron signos de estro, tiempo de inicio y duración del estro (media \pm error estándar) con la aplicación de JR y dos modalidades de amamantamiento durante el periodo postparto.

Tipo de amamantamiento	Aplicación de jalea‡	N	Respuesta a estro (%)	Inicio al estro (h)	Duración de estro (h)
Continuo	Sin	12	91.6	44.7 \pm 4.4	42.4 \pm 2.9 ^b
	Con	12	100	45.9 \pm 2.8	51.1 \pm 2.2 ^d
Controlado †	Sin	12	100	37.6 \pm 3.9	36.5 \pm 2.6 ^a
	Con	12	100	37.5 \pm 5.5	48.1 \pm 2.2 ^c

^{a, b, c, d} Valores con diferente literal dentro de misma columna indica diferencia ($p \leq 0.05$). † Dos periodos de 30 min d⁻¹. ‡ Nueve aplicaciones de 1.0 g d⁻¹.

La manifestación de signos de estro durante el postparto es variable. Ronquillo *et al.* (2008) reportan 50 % de ovejas en estro al iniciar un protocolo de inducción de estro al día 30 PP con esponjas impregnadas con acetato de fluorogestona, Chrono-gest, Intervet, en ovejas pelibuey con amamantamiento continuo; el porcentaje de respuesta incrementa a 64.2 % al administrar gonadotropina coriónica equina (eCG), mientras que al realizar el destete antes de terminar el tratamiento hormonal, el porcentaje de respuesta con FGA fue de 64.2 % y 85.7 % con el tratamiento FGA + eCG. En ovejas Corriedale se reporta que al iniciar el tratamiento de inducción con esponjas impregnadas con acetato de medroxiprogesterona (MPA) + 350 UI eCG, los días 14-18, 24-30 o 42-48, se obtienen porcentajes de respuesta a estro de: 81.3 %, 70.4 % y 47.1 %,

respectivamente (Ungerfeld y Sanchez-Davila, 2012). La respuesta a estro del 97.9 % de las ovejas en este estudio, es superior a la reportada por Ronquillo *et al.* (2008); Ungerfeld y Sanchez-Davila (2012) y similar a la reportada por Castillo-Maldonado *et al.* (2013), quienes mencionan una respuesta de 100 % al iniciar el tratamiento hormonal al día 35 PP. Es posible que el porcentaje de ovejas que responden al tratamiento esté relacionado con el tipo de progestágeno utilizado (CIDR vs esponja), la duración del tratamiento (12, 10 ó 9 días) y el estado ovárico de las ovejas durante este periodo, al respecto Montiel-Castelan (2014) reportó que el porcentaje de ovejas que ovulan antes del día 24 PP es de 25.6 % de ovejas en amamantamiento continuo y 52.5 % de ovejas en amamantamiento controlado (dos periodos de 30 min d⁻¹). En otro estudio con ovejas Pelibuey, Fraire-Cordero (2015) reportó 46.6 % de hembras en amamantamiento continuo que ovulan al día 29 postparto de manera natural. El estado nutricional es uno de los factores determinantes en el reinicio de la actividad reproductiva en las ovejas (Herrera *et al.*, 2010). En sistemas de producción extensiva y semi intensiva, factores ambientales como la época del año y lluvia influyen en la duración del anestro postparto (Sánchez- Dávila *et al.*, 2011)

En ovejas Ossimi (una raza de ovejas rusticas, de grupa grasa), se reporta que la aplicación de JR (500 mg oveja⁻¹ d⁻¹) acorta el periodo parto primer estro ($P < 0.001$), en el grupo testigo se obtuvo un promedio de 44.80 ± 0.46 días, mientras que las ovejas tratadas con JR el promedio fue de 33.30 ± 0.57 días (Mostafa *et al.*, 2008). En este estudio, la aplicación de JR no influyó en el porcentaje de ovejas que manifestaron estro después del protocolo de inducción del estro, posiblemente debido a que el tratamiento hormonal homogenizó el estado ovárico de las ovejas.

El inicio del estro fue similar ($p > 0.05$) entre tratamientos (Cuadro 1 y Figura 1). El promedio de respuesta fue similar entre las ovejas tratadas con y sin JR, mientras que el factor amamantamiento tampoco influyó en esta variable. Sin embargo, el tiempo promedio de inicio a estro en todos los tratamientos fue menor al obtenido por Castillo-Maldonado *et al.* (2013), quienes

reportan tiempos de inicio a estro de 50 a 72 h, al iniciar el tratamiento hormonal al día 35 PP, con efecto macho y amamantamiento controlado (dos periodos de 30 min por d⁻¹).

En ovejas Awassi en anestro estacional, la aplicación de JR (12 aplicaciones de 400 mg d⁻¹) acortó el inicio del estro (31.9 ± 2.3 vs 44.1 ± 2.4) con respecto al testigo (Husein y Ghozlan, 2007). Sin embargo, en este estudio la aplicación de JR no modificó el inicio a estro (Figura 4).

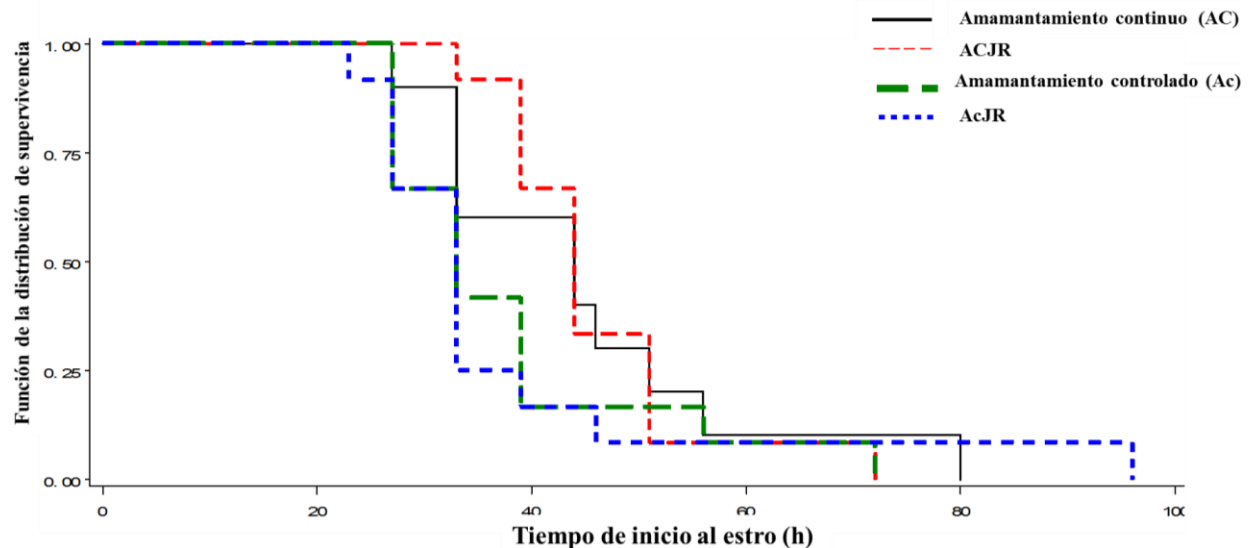


Figura 4. Curvas de supervivencia de tiempo al inicio del estro (h), después del retiro del CIDR, con o sin la aplicación de JR y dos modalidades de amamantamiento durante el periodo postparto en ovejas Pelibuey.

La duración del estro fue diferente ($p \leq 0.05$) entre tratamientos. El tipo de amamantamiento y aplicación de JR modificaron la duración del estro, observándose que el estro se prolongó en las ovejas a las que se les administró JR (Cuadro 1 y Figura 5), lo cual es similar al observado por Mostafa *et al.* (2008), quienes reportan diferencias en la duración del estro entre ovejas tratadas con JR y ovejas testigo (41 ± 0.42 vs 31 ± 0.31). Entre las acciones reportadas de la administración de JR se encuentra un efecto estrogénico observado en condiciones *in vitro* e *in vivo*, mediado por la interacción con los receptores de estrógenos (Mishima *et al.*, 2005). Además, es posible que la JR promueva el crecimiento folicular y la ovulación de una cantidad mayor de folículos, lo cual

podría incrementar la liberación plasmática de estradiol, o incrementar la actividad estrogénica en los folículos en crecimiento y por tanto incrementar el tiempo de duración de signos de estro (Mostafa *et al.*, 2008).

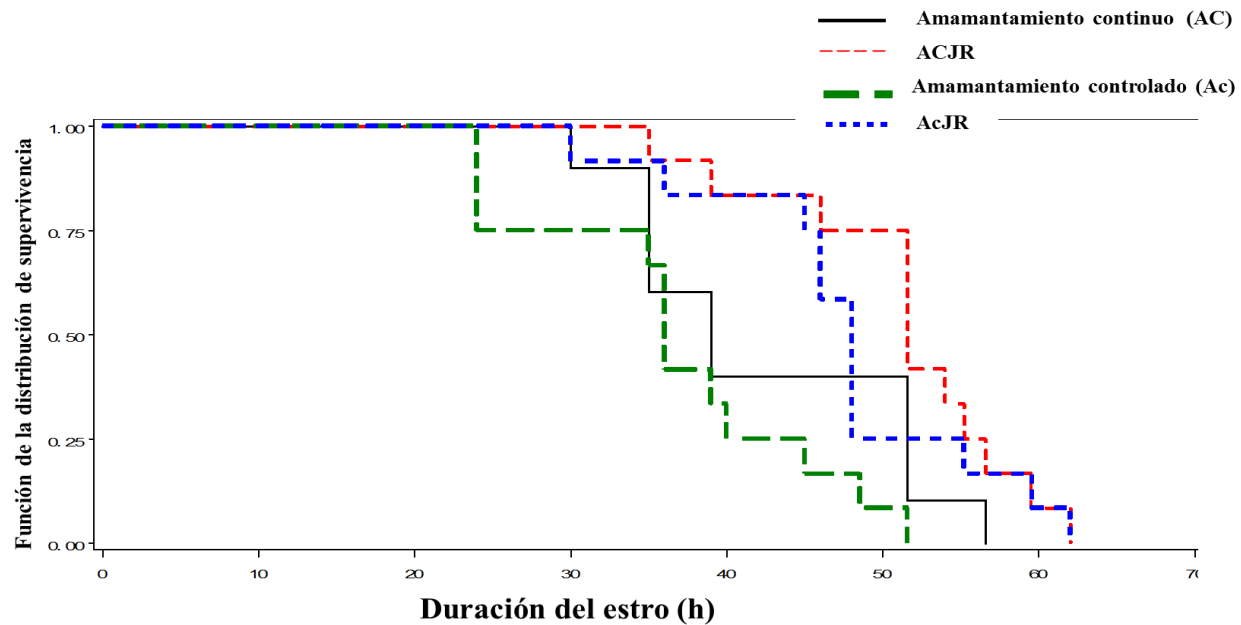


Figura 5. Curvas de supervivencia para duración del estro (h), con la aplicación de JR y dos modalidades de amamantamiento durante el periodo postparto en ovejas Pelibuey.

Tasa de ovulación y retorno a estro

No se encontraron diferencias entre tratamientos para tasa de ovulación (TO) y retorno a estro (Cuadro 2). La TO reportada en ovejas pelibuey varía dependiendo de la época del año y condición corporal. De la Isla *et al.* (2010) reportan 1.3 ± 0.16 a 1.8 ± 0.14 , en diferentes épocas del año y condición corporal de las ovejas. Se sabe que la raza pelibuey presenta ovulaciones múltiples, debido a mutaciones en dos genes relacionados con TO y prolificidad (Pérez-Ruiz, 2012; Argüello-Hernández, *et al.*, 2014). Además, en la oveja el crecimiento folicular y TO también son influenciados por factores ambientales como el fotoperiodo, dieta y estrés (Scaramuzzi *et al.*, 2011), lo cual explica la TO encontrada en este estudio en todos los tratamientos.

Cuadro 2. Tasa de ovulación (media \pm error estándar) y porcentaje de retorno a estro durante un protocolo de inducción con la aplicación de JR y dos modalidades de amamantamiento durante el periodo postparto en ovejas pelibuey.

Tipo de amamantamiento	Aplicación de jalea‡	N	Tasa de ovulación†	Retorno a estro (%)
Continuo	Sin	11	1.8 \pm 0.2	4 (36.3)
	Con	12	2.0 \pm 0.2	4 (33.3)
Controlado†	Sin	12	2.1 \pm 0.1	5 (41.6)
	Con	12	2.1 \pm 0.2	4 (33.3)

No hubo diferencias significativas ($p > 0.05$). † Determinada por ecografía. ‡ Dos periodos de 30 min d⁻¹. † Nueve aplicaciones de 1.0 g d⁻¹.

La JR real contiene una variedad de proteínas, péptidos, aminoácidos libres, ácidos grasos, carbohidratos, vitaminas, minerales y compuestos fenólicos con actividades biológicas como: antioxidantes, promotores del crecimiento y reguladores metabólicos (Ramadan y Al-Ghamdi, 2012). Es posible que los componentes de la JR tengan efectos similares a los buscados en las estrategias de nutrición focalizada y uso de compuestos bioactivos (Delgadillo y Martin, 2015), para mejorar el crecimiento folicular e incrementar la TO (Husein y Haddad, 2006). Entre las acciones que se reportan de la JR se encuentran efectos en el crecimiento y proliferación celular *in vitro* (Salazar-Olivo y Paz-González, 2005), y es posible que entre sus componentes se encuentren factores de crecimiento y hormonas (Koya-Miyata *et al.*, 2004).

En este estudio la administración de JR no modificó la TO, es posible que la duración del tratamiento con JR fuera insuficiente para incrementar el número de óvulos liberados durante el ciclo estral. Otro factor que pudo influir en el resultado para esta variable fue el estado metabólico

y nutricional de las ovejas al momento de realizar la inducción del estro y apareamiento. La presentación del estro se realizó entre los días 30 a 35 PP, que coincidió con la máxima pérdida de peso de las hembras (Figura 2) y el momento de máxima producción láctea (Romero y Bravo, 2012). Sin embargo, la TO obtenida en este estudio es similar a la reportada por Gutierrez *et al.* (2011) en ovejas pelibuey, con el uso de una sustancia glucogénica (100 mL de una solución de glicerol: agua, 90:10) para incrementar la TO de 1.68 ± 0.05 en el tratamiento testigo, a 2.30 ± 0.15 con la administración de la solución glucogénica

El porcentaje de ovejas que retornaron a estro no fue modificado por el tipo de amamantamiento o aplicación de JR (Cuadro 2). De 47 ovejas que mostraron signos de estro tras el retiro del CIDR al día 30 PP, 36.1 % de ellas retornaron a estro dentro de los 20 días posteriores. El porcentaje de ovejas que retornaron a estro en este estudio es superior al 27.5 % reportado por Fraire-Cordero (2015) al realizar el retiro de CIDR al día 40 PP en ovejas en amamantamiento continuo. Es posible que factores relacionados con el postparto, como involución uterina (Ungerfeld y Sanchez-Davila, 2012) o con fallas en la fertilización o muerte embrionaria temprana (Bari *et al.*, 2003) contribuyeran a incrementar el porcentaje de ovejas que manifestaron signos de estro y no quedaron gestantes después del tratamiento hormonal. Sin embargo, la pérdida de peso de las ovejas durante el periodo de inducción del estro y apareamiento (Figura 2) podría haber incrementado el porcentaje de ovejas que retornaron a estro.

Ovejas gestantes y paridas

El porcentaje de ovejas gestantes a los 35 y 55 días PP fue similar ($P > 0.05$) entre tratamientos (Cuadro 3). Los porcentajes de ovejas gestantes en los tratamientos de amamantamiento continuo y controlado en este estudio, son similares al reportado por Ungerfeld y Sanchez-Davila (2012) en ovejas Corriedale, quienes obtuvieron 43.8 % de ovejas gestantes al iniciar el tratamiento hormonal entre los 18 y 24 días PP, y solo 29.7 % de gestación cuando la inducción se realizó entre los 24 y

30 días PP. Para los tratamientos T2 y T4, el porcentaje de ovejas gestantes a los 35 días PP (75 y 66.6 %, respectivamente) fue similar al reportado por Ronquillo *et al.* (2008) con restricción de amamantamiento y retiro del progestágeno a los 42 días PP (72 %).

Cuadro 3. Porcentaje de ovejas que quedaron gestantes a los 35 o 55 días postparto y porcentaje de ovejas que parieron después de un protocolo de inducción del estro con la aplicación de JR y dos modalidades de amamantamiento durante el periodo postparto.

Tipo de amamantamiento	Aplicación de jalea‡	(n)	Ovejas gestantes 35 dpp (%)	Ovejas gestantes 55 dpp (%)	Ovejas paridas (%)
Continuo	Sin	12	6 (50)	9 (75)	9 (83.3)
	Con	12	6 (75)	9(75)	8 (66.6)
Controlado†	Sin	12	5(41.6)	10 (83.3)	10(83.3)
	Con	12	7 (66.6)	11 (91.6)	11(91.6)

No hubo diferencias significativas ($p > 0.05$). † Dos periodos de 30 min d⁻¹. ‡ Nueve aplicaciones de 1.0 g d⁻¹.

En este estudio, el porcentaje de ovejas gestantes al día 55 PP en los tratamientos AC, ACJR y Ac son similares al obtenido por Castillo-Maldonado *et al.* (2013) en ovejas con amamantamiento continuo y efecto macho (83.3 ± 0.1). Fraire-Cordero reportó que el uso de un reconstituyente metabólico incrementa el porcentaje de gestación a 86.2 % ($p \leq 0.05$), similar al obtenido en este estudio en las ovejas de AcJR. Es posible que el porcentaje de ovejas que retornaron a estro esté relacionado con fallas en la ovulación, fertilización, o implantación embrionaria (Bari *et al.*, 2003); a factores inherentes al embrión, como anormalidades cromosómicas; o factores relacionados con el ambiente uterino, por una inadecuada función del cuerpo lúteo (Bilodeau-Goeseels y Kastelic,

2003). Otro relacionado con el estado nutricional de las hembras al momento del apareamiento y reconocimiento materno de la gestación (Scaramuzzi *et al.*, 2006), lo cual explicaría en forma general los resultados para TO, retorno a estro y porcentaje de ovejas gestantes en todos los tratamientos.

Una oveja del tratamiento ACJR diagnosticada como gestante murió antes del parto, por lo que el porcentaje de ovejas paridas respecto al total en el experimento fue de 79.1 %, sin diferencias entre tratamientos.

Fecundidad y prolificidad

La modalidad de amamantamiento y aplicación de JR no modificaron estas variables (Cuadro 4). La fecundidad obtenida en este estudio fue de 1.4, sin diferencias entre tratamientos ($p > 0.05$), similar al 1.5 reportado por Castillo-Maldonado *et al.* (2013) y 1.4 por Fraire-Cordero (2015) en ovejas pelibuey.

La prolificidad en la oveja puede estar regulada por factores genéticos (Fabre *et al.*, 2006) y nutricionales (Scaramuzzi *et al.*, 2011). En Cuba, Herrera *et al.* (2010) reportan prolificidades de 1.2 a 1.7 en ovejas de la raza pelibuey. En ovejas en pastoreo, la prolificidad es de 1.2 a 1.4 en la época de sequía; mientras que en la época de lluvia incrementa a 1.3-1.5, y puede llegar a 1.6, cuando se ofrece suplementos alimenticios (Perón, 2010). En el noroeste mexicano, Avendaño *et al.* (2004) reportan que la prolificidad de la oveja pelibuey es de 1.76 ± 0.08 . En este estudio, la prolificidad general fue de 1.8 y sin diferencias ($p > 0.05$) entre tratamientos (Cuadro 4). Ronquillo *et al.* (2008) mencionan prolificidades de 1.3 ± 0.1 (solo con progestágenos) y 1.9 ± 0.1 con uso de eCG en ovejas pelibuey postparto; Castillo-Maldonado *et al.* (2013) obtuvieron promedios de 1.7 ± 0.2 a 2.0, solo con control de amamantamiento y efecto macho; mientras que Fraire-Cordero (2015) reporta medias de 1.8 ± 0.2 a 2.4 ± 0.2 con efecto macho y un reconstituyente metabólico. En ovejas Awassi, Kridli *et al.* (2003); Husein y Haddad (2006); Kridli y Al-Khetib (2006) no reportan

incremento de la prolificidad por efecto de la JR, similar a lo encontrado en este estudio. Los estudios anteriores sugieren una alta varibilidad en la prolificidad de la raza pelibuey. Los resultados obtenidos en este estudio se encuentran dentro del rango de prolificidad reportado para la raza.

Cuadro 4. Fecundidad y prolificidad (media \pm EE) en ovejas pelibuey después de un protocolo de inducción del estro con la aplicación de JR y dos modalidades de amamantamiento durante el periodo postparto.

Tipo de amamantamiento	Aplicación de jalea‡	Corderos nacidos	Fecundidad	Prolificidad
Continuo	Sin	16	1.3	1.77 \pm 0.1
	Con	17	1.4	2.1 \pm 0.1
Controlado†	Sin	15	1.2	1.50 \pm 0.2
	Con	23	1.9	2.09 \pm 0.0

No hubo diferencias significativas ($p > 0.05$). † Dos periodos de 30 min d^{-1} . ‡ Nueve aplicaciones de 1.0 g d^{-1} .

CONCLUSIONES

En ovejas pelibuey postparto, la duración del estro fue modificada por la aplicación de JR y el tipo de amamantamiento, el efecto de ambos factores en esta variable fue independiente. La restricción del amamantamiento, aplicación de jalea real o interacción de ambos factores no modificaron la TO, porcentaje de ovejas gestantes, paridas, la fecundidad y prolificidad. El desempeño reproductivo de las ovejas pudo ser limitado por la pérdida de peso durante el período experimental, por lo cual se recomienda cuidar el estado nutricional de las ovejas en futuras investigaciones.

CAPITULO IV. MANEJO REPRODUCTIVO EN OVEJAS PELIBUEY CON CONTROL DEL AMAMANTAMIENTO Y ADMINISTRACIÓN DE JALEA REAL

RESUMEN

El control del amamantamiento y la aplicación de jalea real (JR) estimulan la actividad ovárica en ovejas en anestro postparto. Por lo anterior, ambas estrategias pueden ser una alternativa al uso de hormonas exógenas. El objetivo de este estudio fue evaluar la administración de cuatro aplicaciones de 1.0 g de JR y restricción del amamantamiento (dos periodos de 30 min d⁻¹), en ovejas Pelibuey paridas. La hipótesis planteada fue que la JR, la restricción del amamantamiento o la combinación de ambos factores mejoran el desempeño reproductivo de ovejas en el postparto. El diseño experimental fue completamente al azar con arreglo factorial de los tratamientos en dos niveles: amamantamiento, continuo o controlado y dos niveles de JR, con JR ó sin JR. Se utilizaron 75 ovejas postparto de la raza pelibuey, con promedio de 4 ± 1 partos, que se distribuyeron a uno de cuatro tratamientos: amamantamiento continuo (AC; n = 16); AC con JR (n = 17); amamantamiento controlado (Ac; n= 15); Ac con JR (n=16). Al momento del destete se introdujo un macho marcador al corral de las ovejas, para evaluar la respuesta reproductiva. El tiempo de inicio a estro fue menor en las ovejas con amamantamiento continuo sin JR (p < 0.05). La aplicación de JR incrementó la duración de estro en las ovejas en ambas modalidades de amamantamiento (p < 0.05). El porcentaje de gestación se incrementó en las ovejas en restricción del amamantamiento con y sin JR. Las variables días a la ovulación, presentación de estro, tasa de ovulación, retorno a estro, porcentaje de parición, fecundidad y prolificidad no fueron modificadas por los factores estudiados o su interacción. El manejo reproductivo con restricción del amamantamiento y JR es una alternativa viable para el control de la reproducción sin el uso de hormonas exógenas.

Palabras clave: oveja, postparto, actividad reproductiva, producción limpia.

ABSTRACT

Sucking control and royal jelly (JR) application can stimulate ovarian activity in postpartum anestrus ewes. Therefore, both strategies may be an alternative to the use of exogenous hormones. The objective of this study was to evaluate the administration of four applications of 1.0 g of JR and suckling control (two periods of 30-min d⁻¹) in Pelibuey ewes. The hypothesis was that the JR, suckling restriction or the combination of both factors improve the reproductive performance of postpartum sheep. The experimental design was completely randomized, according to treatments at two levels of suckling: continuous or controlled and two levels of JR: with and without. Treatments were randomly assigned to 75 sheep: continuous suckling (AC; n = 16); AC with JR (n = 17); suckling controlled (Ac; n = 15); Ac with JR (n = 16). At the time of weaning, a marker male was introduced to the sheep's pen for evaluate the reproductive response. The time to start estrus was lower in sheep with continuous suckling without JR ($p < 0.05$). The application of JR increased estrus duration in sheep in both feeding modalities ($p < 0.05$). The percentage of gestation was increased in sheep in restriction of suckling with and without JR. The variables variables at ovulation, estrus presentation, ovulation rate, estrus return, parity rate, fecundity and prolificacy were not modified by the factors studied or their interaction. Reproductive management with restriction of breastfeeding and JR is a viable alternative for the control of reproduction without the use of exogenous hormones.

Key words: sheep, postpartum, reproductive activity, clean production.

INTRODUCCIÓN

En ganadería, la eficiencia reproductiva es un componente principal de la productividad (Delgadillo y Martin, 2015). En las ovejas, el anestro postparto es una de las causas de bajo

desempeño reproductivo, y pérdidas económicas (Ascari *et al.*, 2016), y el intervalo entre el parto y la reanudación de la actividad reproductiva es uno de los factores naturales que determinan la frecuencia de parición y la productividad general en ovinos (Ungerfeld y Sanchez-Davila, 2012). Entre las estrategias utilizadas para acortar el periodo postparto (PP) se encuentra el control del amamantamiento (Morales *et al.*, 2004; Ronquillo *et al.*, 2008; Pérez-Hernández *et al.*, 2009). Por otra parte, la jalea real (JR), una secreción de las glándulas craneales de abejas obreras (*Apis mellifera*), que es indispensable para la diferenciación de castas y fertilidad de la abeja reina (Wheeler *et al.*, 2006), al ser administrada a ovejas cíclicas y en anestro postparto, mejora el desempeño reproductivo (Husein y Haddad, 2006; Kridli y Al-Khetib, 2006). Además, la JR, administrar JR vía oral a ovejas Ossimi, puede acortar el postparto (Mostafa *et al.*, 2008).

Existe una tendencia a utilizar estrategias de manejo reproductivo, como los efectos socio-sexuales y alimentación focalizada, para disminuir el uso de hormonas exógenas en sistemas de producción limpia (Martin *et al.*, 2004; Martin, 2009; Delgadillo y Martin, 2015). Con base en lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la administración de cuatro aplicaciones de 1.0 g de JR y la restricción del amamantamiento (dos periodos de 30 min d⁻¹), en ovejas Pelibuey, bajo la hipótesis de que la JR, el control del amamantamiento o la combinación de ambos factores puede mejorar el desempeño reproductivo en ovejas Pelibuey al momento del destete.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación

El estudio se realizó de mayo a diciembre de 2015 en el Laboratorio de Reproducción en Ovinos y Caprinos (LaROCa) del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Estado de México, localizado en 19°29' N y 98°53' O, a 2250 m, en clima templado subhúmedo con lluvias en verano (García, 1988).

Animales experimentales

En este estudio se utilizaron 65 ovejas Pelibuey paridas, edad de 4.5 ± 1 años, 4 ± 1 partos y peso promedio al parto de 51.5 ± 6.5 kg. Durante la gestación las ovejas se mantuvieron aisladas de los sementales. Se desparasitó (Closantel®, 10 mg kg⁻¹, Chinoin) y aplicó una dosis de selenito de sodio (0.25 mg kg⁻¹ Mu-se ®, Schering-Ploug) como parte del manejo profiláctico 30 d antes de iniciar el experimento. Los 10 carneros utilizados para detectar estros y aparear a las ovejas, recibieron un tratamiento profiláctico similar, además de su previa evaluación de libido y de la calidad del semen.

El protocolo de manejo del cordero recién nacido incluyó desinfección del ombligo con yodo metálico al 5 %, aplicación de 2 mL de Metabolase® (Laboratorio Schutze-Segen) y selenito de sodio (0.25 mg kg⁻¹ Mu-se ®, Schering-Ploug), ambos por vía subcutánea. Todos los corderos recibieron alimento iniciador (20 % PC y 2.7 Mcal de EM) a partir del día 10 después del nacimiento y se mantuvieron en corrales provistos de comedero y agua a libre acceso.

Alojamiento y alimentación

Las ovejas permanecieron en corrales de 40 m² provistos de sombra y sol, comederos y agua a libre acceso, respetando su espacio vital; y recibieron una dieta que cubría sus requerimientos nutricionales. El alimento proporcionado fue 1.0 kg oveja⁻¹ de heno (70 % heno de avena, 30 % heno de alfalfa) por la mañana (8:00 h) y 0.5 kg oveja⁻¹ de concentrado comercial (15 % proteína cruda y 2.5 Mcal EM) por la tarde (16: 00 h).

Jalea real

La JR utilizada en este estudio se obtuvo de la empresa Miel-hitaa® (Oaxaca) y se mantuvo a -20°C hasta su uso; con la finalidad de facilitar su administración a las ovejas de los tratamientos con aplicación de JR, se diluyó (0.5 g mL⁻¹) en solución salina fisiológica (Pisa ® Farmacéutica) 0.9%, para facilitar su administración intramuscular a las ovejas.

Amamantamiento

Siete días después del parto las ovejas con sus crías se asignaron al azar a uno de dos tipos de amamantamiento: continuo (AC; n=33) o amamantamiento controlado (Ac; n=31). En AC, las ovejas permanecieron con sus corderos las 24 h del día. En Ac, las ovejas estuvieron con sus crías 30 min por la mañana (08:00-08:30) y 30 min por la tarde (16:00-16:30), para que los corderos amamantaran y posteriormente se separaban a otro corral.

Diseño experimental y tratamientos

El diseño del protocolo experimental fue completamente al azar, con un arreglo de dos factores a dos niveles cada uno, amamantamiento: continuo o controlado y la administración de JR: con o sin. La combinación entre los niveles de ambos factores generó cuatro tratamientos experimentales: AC (n = 016); ACJR (n = 17); Ac (Ac; n = 15); y AcJR (n = 16) (Figura 1).

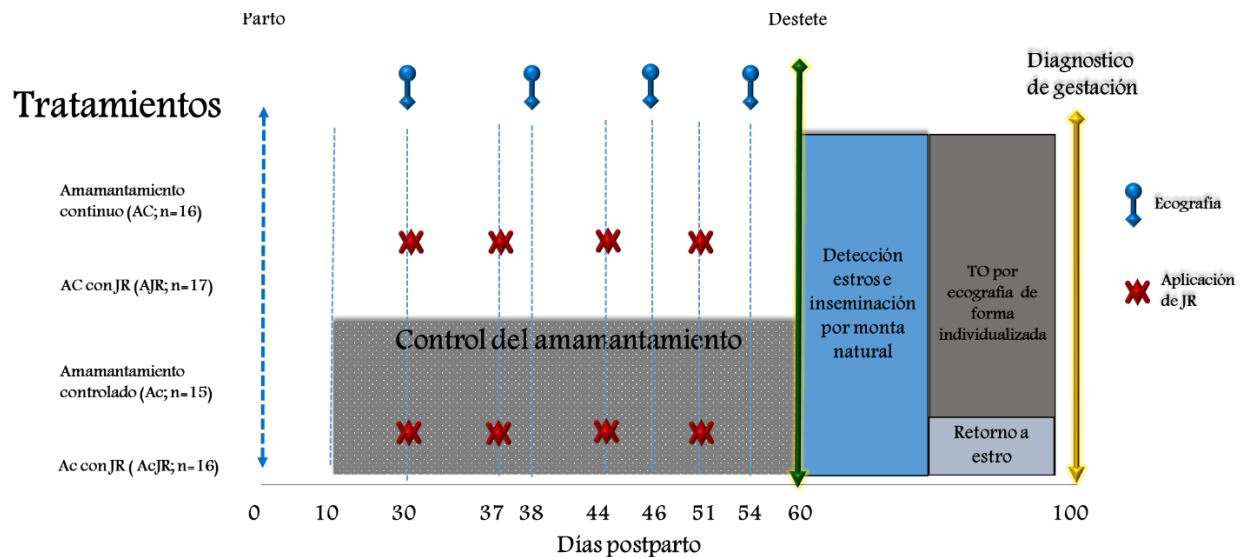


Figura 1. Esquema de protocolo experimental. AC= 24 h d⁻¹; Ac = dos periodos de 30 min d⁻¹. JR = cuatro aplicaciones de 1.0 g. Ecografía (transrectal), para detectar presencia de Cuerpos lúteos. TO = tasa de ovulación.

Las ovejas de los tratamientos AC y Ac recibieron 2 mL de solución salina (como placebo) los días 30, 37, 44 y 51 PP.

Las ovejas de los tratamientos ACJR y AcJR recibieron 1.0 g de JR los mismos días que se aplicó el placebo.

Ecografía

Para determinar el porcentaje de ovejas que ovularon entre los días 30 y 54 PP, y la tasa de ovulación (TO) después de aparear a las ovejas, se realizó ecografía trans-rectal con un equipo Sono Vet Pico (Medison®,) y un transductor lineal de 7.5 mHz, los días 30, 38, 46, 54 PP, y 8 d después del estro.

Detección de estros e inseminación

Al momento del destete (día 60 PP), se introdujo un carnero con mandil, al corral de las ovejas por 30 min. La detección de estros se realizó cada 12 h, con rotación de carneros, para mantener el estímulo positivo. Las ovejas que manifestaron signos externos de estro (inmovilidad en presencia del carnero y permitir la monta) se separaron del grupo para ser apareadas, cada doce horas, hasta el término de signos de estro. El retorno al estro se determinó introduciendo un carnero con mandil al corral de las ovejas por 30 min cada 12 h, durante el siguiente ciclo estral.

Diagnóstico de gestación

El diagnóstico de gestación de las ovejas se realizó por ecografía abdominal, al día 100 PP, con un equipo ultrasonido portátil CTS- 900 ((Shantou Institute of Ultrasonic Instruments) y un transductor convexo de 3.5-7 Mhz.

Variables evaluadas

Días a la ovulación: es el tiempo transcurrido en días, entre el parto y la detección de cuerpos lúteos por ecografía trans-rectal. Respuesta al estro: es el número de ovejas que mostraron signos externos de estro, con respecto al total de ovejas del tratamiento. Inicio de estro: es el número de días a partir del destete hasta la manifestación de signos de estro. Duración del estro: es el número

de h durante las cuales la oveja aceptó la monta del carnero. Tasa de ovulación (TO): número de cuerpos lúteos en ambos ovarios, observados por ecografía trans-rectal. Retorno a estro: es el número de ovejas que mostraron signos de estro durante los 20 días posteriores a la inseminación, con respecto al número total de ovejas x 100. Ovejas gestantes: es el número de ovejas que resultaron positivas al diagnóstico de gestación, respecto al total de ovejas del tratamiento x 100. Ovejas paridas: número de ovejas paridas, x 100. Fecundidad: número de corderos nacidos entre el número total de ovejas en el tratamiento. Prolificidad, es el número de corderos nacidos respecto al número de ovejas paridas de cada tratamiento.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con el software SAS 9.4 (SAS, 2012). Se utilizó un diseño completo aleatorizado con un arreglo 2², en el cual se incluyeron dos factores, A: ‘tipo de amamantamiento’ y B: ‘aplicación de JR’, cada uno a dos niveles (la combinación entre los niveles de ambos factores, generó los cuatro tratamientos).

El análisis para inicio y duración del estro se realizó utilizando la prueba de Long Rank, con el procedimiento LIFETEST/SAS. Las variables de respuesta de estro, retorno a estro y número de ovejas gestantes, se analizaron con el modelo de regresión logística usando el procedimiento PROC LOGISTIC/SAS. Para el análisis de tasa de ovulación, fecundidad y prolificidad, se utilizó regresión Binomial Negativa, con el procedimiento GENMOD/SAS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Días a la ovulación

Los efectos de amantamiento, JR o la interacción no influyeron en el promedio de días PP a la ovulación ($p > 0.05$). El total de las ovejas ovularon en promedio a los 40.9 ± 1.2 días PP. Al día 54 PP se detectó al menos un cuerpo lúteo (CL) en cada oveja (Cuadro 1).

Cuadro 1. Efecto del amamantamiento y de la jalea real en la ovulación de ovejas pelibuey durante el postparto (%).

Tipo de amamantamiento	Aplicación de jalea real ‡	N	Porcentaje de ovejas que ovularon ¶			
			Días postparto			
			30	38	46	54
Continuo	Sin	16	0	28.5	78.5	100
	Con	17	6.6	20	66.6	100
Controlado †	Sin	15	0	20	86.6	100
	Con	16	0	20	86.6	100

No hubo diferencias significativas ($p > 0.05$). † Dos periodos de 30 min d⁻¹. ‡ Cuatro aplicaciones de 1.0 g. ¶ Determinado por ecografía transrectal.

El porcentaje de ovejas que ovularon antes del día 35 PP es inferior al reportado por Castillo-Maldonado *et al.* (2013), quienes mencionan un efecto positivo del control del amamantamiento ($p < 0.05$), con porcentajes de ovulación al día 35 PP de 89.6 % y 52.1 % en ovejas en Ac (dos periodos de 30 min d⁻¹) y AC respectivamente, en la época reproductiva. Pérez-Hernández *et al.* (2009) mencionan porcentajes de ovulación de 18.8 % con AC y 25 % con Ac (30 min una vez al día) al día 56 PP, sin diferencias estadísticas para el tipo de amamantamiento ($p > 0.05$) en el anestro postparto. En otro estudio en el periodo de anestro estacional, Morales *et al.* (2004), reportan un promedio de 52.6 ± 20 y 60.5 ± 2.7 días a la primera ovulación en ovejas Pelibuey en amamantamiento continuo y controlado (dos periodos de 30 min d⁻¹) respectivamente. La diferencia en los resultados en este estudio y los autores citados puede estar relacionada con factores como la alimentación que recibieron las ovejas antes y después del parto, número de corderos por

oveja, condición corporal de las ovejas al momento del parto y pérdida de peso corporal durante la lactancia, similar a lo que sucede en bovinos (Montiel y Ahuja, 2005), número de partos, o con la época del año (Ungerfeld y Sanchez-Davila, 2012).

Mostafa *et al.* (2008) reportan que la administración de JR ($500 \text{ mg oveja}^{-1} 21 \text{ d}^{-1}$) a ovejas Ossimi reduce los días al primer estro respecto al grupo testigo (33.30 ± 0.57 vs 44.80 ± 0.46), sin embargo en este estudio la administración de JR no modificó los días a la ovulación, posiblemente por las diferencias en el número de días PP al iniciar la aplicación de JR, dosis y duración del tratamiento.

Presentación, tiempo de inicio y duración del estro

Las ovejas de todos los tratamientos presentaron signos de estro durante el periodo de observación. El tiempo promedio de inicio a estro fue de 7.1 ± 1.0 días. Las ovejas del grupo amamantamiento continuo sin aplicación de JR respondieron a estro en menor tiempo ($p < 0.05$). El Ac, aplicación de JR ó su interacción no homogenizaron la respuesta de estro (Cuadro 2). En el presente estudio no se utilizaron hormonas exógenas para sincronizar la respuesta, por lo cual, el tiempo de inicio a estro estuvo determinado por el estado ovárico al momento del destete (presencia o ausencia de cuerpos lúteos viables) y el efecto positivo de la presencia del macho en la detección de estros. Al respecto, Jarquin *et al.* (2014) mencionan que en ovejas cíclicas, el efecto macho no sincroniza la presentación del ciclo estral, por lo que en este estudio, el menor tiempo de inicio al estro en el grupo AC podría ser debido al efecto del destete, como estímulo estresor, para provocar la luteolisis, y posterior presentación del estro.

Cuadro 2. Ovejas que manifestaron estro, tiempo de inicio y duración del estro (media \pm error estándar) con la aplicación de JR y dos modalidades de amamantamiento durante el periodo postparto.

Tipo de amamantamiento	Aplicación de jalea.‡	N	Respuesta a estro (%)	Inicio al estro (d ⁻¹)¶	Duración de estro (h)
Continuo	Sin	16	100	3.5 \pm 0.9 ^a	30.7 \pm 2.8 ^a
	Con	17	100	8.9 \pm 1.2 ^b	40.5 \pm 2.8 ^c
Controlado †	Sin	15	100	7.5 \pm 1.3 ^b	36.0 \pm 2.6 ^b
	Con	16	100	8.2 \pm 1.4 ^b	42.2 \pm 2.1 ^c

^{a, b, c} Valores con diferente letra en una columna son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$). † Dos periodos de 30 min d⁻¹. ‡ Cuatro aplicaciones de 1.0 g. ¶ Manifestación de signos de estro después del destete.

La duración del estro fue modificada tanto por la aplicación de JR como por el tipo de amamantamiento ($p < 0.05$). El estro se prolongó en las ovejas tratadas con JR en ambas modalidades de amamantamiento (Cuadro 2). Mostafa *et al.* (2008), reportan un efecto similar con la JR en la duración del estro en ovejas de lana durante el postparto ($p < 0.001$). Este efecto puede ser debido a un mayor número de folículos en crecimiento (Husein y Haddad, 2006) o a una mayor actividad estrogénica de estos folículos, producida por la administración de JR (Mishima *et al.*, 2005; Moutsatsou *et al.*, 2010).

Tasa de ovulación y retorno a estro

La tasa de ovulación (TO) fue similar entre tratamientos, sin efecto del tipo de amamantamiento, JR, o la interacción (Cuadro 3). El número de folículos que ovulan en cada ciclo es uno de los componentes que determina la eficiencia reproductiva, está directamente relacionado con el crecimiento folicular y es determinado por diversos factores, entre ellos la acción directa e indirecta

de algunas hormonas metabólicas en el ovario, factores genéticos, edad y época del año (Scaramuzzi *et al.*, 2011). En ovejas Pelibuey, la TO reportada es variable, de 1.3 ± 0.16 a 1.8 ± 0.14 ; y puede ser influenciada o no por la condición corporal (De la Isla *et al.*, 2010; De la Isla *et al.*, 2011), época del año y tipo de alimentación.

Para retorno a estro, no se encontraron diferencias estadísticas por efecto de amamantamiento, JR o la interacción ($p > 0.05$). Del total de ovejas en el estudio, 9.3 % retornaron a estro. En el grupo de amamantamiento continuo sin aplicación de JR retornó a estro un mayor número de ovejas, seguido por las ovejas de amamantamiento continuo con aplicación de JR. Ninguna oveja de amamantamiento controlado mostró signos de estro después de la inseminación por monta natural (Cuadro 3). Entre los factores relacionados con el retorno a estro se encuentran fallas en el proceso de ovulación, transporte del ovocito y fertilización o muertes embrionarias tempranas (Bari *et al.*, 2003). Fraire-Cordero (2015), encontró porcentajes de retorno a estro de 27 a 66 % en ovejas de pelo durante el postparto, posiblemente relacionadas con a técnica de inseminación. Mostafa *et al.* (2008), reportan que la aplicación de JR disminuye a 14.4 % el porcentaje de ovejas Awassi postparto que retornan a estro (40 % en el grupo testigo). Es posible que en este estudio, la monta realizada cada 12 h, durante el estro (el cual se prolongó en las ovejas tratadas con JR) incrementó la posibilidad de fertilización, por lo cual, el número de ovejas que retornaron a estro disminuyó. Otro factor que pudo influir en el bajo porcentaje de ovejas que retornaron a estro en todos los tratamientos puede estar relacionado con el hecho de que no se utilizaron esponjas o dispositivos intravaginales, los cuales pueden estar relacionados con cambios en el ambiente vaginal, vaginitis e infecciones vaginales, que pueden disminuir la fertilidad (Manes y Ungerfeld, 2015).

Cuadro 3. Tasa de ovulación (media \pm EE) y porcentaje de retorno en ovejas Pelibuey con dos tipos de amamantamiento y aplicación de jalea real, durante el periodo postparto.

Tipo de amamantamiento	Aplicación de jalea‡	N	Tasa de ovulación (media \pm EE)	Retorno a estro (n)	(%)
Continuo	Sin	16	1.9 \pm 0.1	4	25
	Con	17	2.5 \pm 0.2	2	11.7
Controlado†	Sin	15	2.1 \pm 0.1	0	0
	Con	16	2.8 \pm 0.2	0	0

No hubo diferencias significativas ($p > 0.05$). † Dos periodos de 30 min d^{-1} . ‡ Cuatro aplicaciones de 1.0 g.

Porcentaje de ovejas gestantes y paridas

El porcentaje de ovejas gestantes se modificó ($p < 0.05$) por el tipo de amamantamiento pero no por la aplicación de JR o la interacción de ambos factores (Cuadro 4). Todas las ovejas en amamantamiento controlado fueron diagnosticadas como gestantes. El menor porcentaje de gestación se obtuvo en las ovejas en amamantamiento continuo sin aplicación de JR, seguido de las ovejas en amamantamiento continuo con JR. Kridli *et al.* (2003); Husein y Haddad (2006) reportan que la JR (doce aplicaciones de 250 mg d^{-1} y 400 mg d^{-1} , respectivamente), incrementa el porcentaje de ovejas gestantes. En este estudio no se observó efecto de la aplicación de JR; sin embargo el porcentaje de gestación es superior a los reportados por los autores mencionados.

Dos ovejas en amamantamiento controlado, diagnosticadas como gestantes abortaron, por lo que el porcentaje de ovejas paridas con y sin aplicación de JR disminuyó. No se encontraron diferencias estadísticas ($p > 0.05$) por efecto de amamantamiento, JR o la interacción de ellos.

Cuadro 4. Ovejas gestantes y ovejas paridas con dos tipos de amamantamiento y aplicación de jalea real, durante el periodo postparto.

Tipo de amamantamiento	Aplicación de jalea‡	N	Ovejas gestantes¶		Ovejas paridas	
			(n)	(%)	(n)	(%)
Continuo	Sin	16	9	(56.2) ^a	9	(56.2)
	Con	17	15	(88.2) ^b	15	(88.2)
Controlado†	Sin	15	15	(100) ^b	14	(93.3)
	Con	16	16	(100) ^b	15	(93.7)

^{a, b}. Valores con diferente letra en una columna son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$). † Dos periodos de 30 min d⁻¹. ‡ Cuatro aplicaciones de 1.0 g. ¶ Determinado por ecografía abdominal d 100 PP.

Fecundidad y prolificidad

El tipo de amamantamiento o aplicación de JR no modificaron ($p > 0.05$) la fecundidad o la prolificidad (Cuadro 5). La fecundidad general en este experimento fue de 1.15, similar a la reportada por Cruz-Espinoza (2011) de 0.98 y 1.1 en ovejas en amamantamiento continuo y controlado respectivamente. Fraire-Cordero (2015) reporta una fecundidad de 1.03 en ovejas de pelo en amamantamiento continuo, en condiciones similares a las de este estudio. En contraste, Castillo-Maldonado *et al.* (2013), en época reproductiva encontró fecundidades de 1.42 a 1.63 en un estudio realizado en la misma unidad experimental, la diferencia con lo obtenido en este estudio puede estar relacionado con la época del año.

Cuadro 5. Fecundidad y prolificidad en ovejas pelibuey con dos tipos de amamantamiento y aplicación de jalea real, durante el periodo postparto.

Tipo de amamantamiento	Aplicación de jalea	N	Corderos nacidos	Fecundidad	Prolificidad
Continuo	Sin	16	14	0.87	1.5
	Con	17	22	1.29	1.4
Controlado	Sin	15	17	1.13	1.2
	Con	16	22	1.37	1.4

No hubo diferencias significativas ($p > 0.05$). † Dos periodos de 30 min d⁻¹. ‡ Cuatro aplicaciones de 1.0 g.

La prolificidad promedio en este estudio fue 1.41, similar a los reportado por Castillo-Maldonado *et al.* (2013) y Fraire-Cordero (2015). Castillo-Maldonado *et al.* (2013) no encontraron efecto del tipo de amamantamiento para estas dos variables, lo cual concuerda con lo obtenido en este estudio. Sin embargo, Ronquillo *et al.* (2008) reportan incremento de prolificidad con el uso de amamantamiento controlado ó destete precoz ($p < 0.05$). La variación de resultados para esta variable puede ser debido a factores como la alimentación de las ovejas al cubrir los requerimientos energéticos (5.41 kcal EM) y proteicos (13-14 % PC) para la producción de leche (Romero y Bravo, 2012) durante el anestro postparto, la condición corporal previa al parto y durante la monta (Herrera *et al.*, 2010), y la época del año, ya que la prolificidad en ovejas pelibuey es mayor en los meses de octubre a noviembre (Michel-Aceves *et al.*, 2011).

Hamadeh *et al.* (1996), reportan que la fertilidad (36.9) y prolificidad (1.16) en ovejas Awasi en un régimen de destete a dos meses PP e introducción de carneros son superiores a las obtenidas con un sistema de destete precoz (fertilidad de 23.8 y prolificidad de 1.0) a la semana 1 PP. Los resultados de estos autores son inferiores a los obtenidos en este estudio, pero muestran que es

posible implementar un sistema de manejo reproductivo en periodo PP, aprovechando el destete y la introducción de carnero, sin el uso de hormonas exógenas.

CONCLUSIONES

El manejo reproductivo sin hormonas exógenas, en ovejas durante el postparto, es una alternativa viable en producción limpia. La aplicación de jalea real incrementó la duración del estro y control del amamantamiento mejoró el porcentaje de gestación, por lo cual se recomienda el uso de estas dos estrategias en el control reproductivo en ovinos.

DISCUSIÓN GENERAL

La JR puede mejorar la respuesta reproductiva en humanos (Lewis, 2004; Abdelhafiz y Muhamad, 2008), ratas (Hidaka *et al.*, 2006; Salem, 2013; Ghanbari *et al.*, 2015), conejos (Elnagar, 2010; Elhanoun *et al.*, 2014), ovinos (Husein y Kridli, 2002; Husein y Haddad, 2006; Kridli y Al-Khetib, 2006), y su adición a medios de fertilización (Abd-Allah, 2012) o dilución de semen (Moradi *et al.*, 2013) también produce resultados benéficos. En ovejas de lana, la JR incrementa la incidencia de estros, reduce el tiempo de inicio a estro (Husein y Kridli, 2002) y mejora el porcentaje de gestación (Kridli *et al.*, 2003; Husein y Haddad, 2006), similar a lo obtenido con la aplicación de eCG (Kridli y Al-Khetib, 2006; Husein y Haddad, 2006).

En el primer estudio (Capítulo II), la dosis de 1.0 g de JR por 3 d, al final de un protocolo de sincronización de estros, redujo el tiempo de inicio a estro respecto al testigo ($p < 0.05$). La reducción en el intervalo de inicio del estro en las ovejas tratadas con JR puede ser por efectos estimulantes en el crecimiento y desarrollo folicular (Kridli y Al-Khetib, 2006), o el incremento en la secreción de estradiol de los folículos en crecimiento (Husein y Kridli, 2002). Al respecto, Mishima *et al.* (2005) reportan actividad estrogénica de la JR *in vivo* e *in vitro*. Suzuki *et al.* (2008) y Moutsatsou *et al.* (2010) mencionan a 10H2DA, 10HDA, 2DEA y 24MET como responsables de la actividad estrogénica de la JR. El tiempo de inicio a estro fue menor en las ovejas que recibieron eCG ($p < 0.05$). Sin embargo, para las variables: respuesta y retorno a estro, ovejas gestantes, fertilidad y prolificidad no se encontraron diferencias entre la aplicación de eCG o JR ($p > 0.05$). Lo anterior sugiere la posibilidad de usar JR en sustitución del uso de eCG.

El amamantamiento es un estímulo inhibitorio de la actividad reproductiva durante el postparto, por lo que una de las estrategias utilizadas para la reactivación del eje reproductivo es la restricción del amamantamiento (Pérez-hernández *et al.*, 2002; Morales *et al.*, 2004; Ronquillo *et al.*, 2008;

Morales *et al.*, 2011; Castillo-Maldonado *et al.*, 2013; Arroyo *et al.*, 2011). Por otra parte, Mostafa *et al.* (2008) reportan que la JR mejora el desempeño reproductivo de las ovejas en este periodo.

En el segundo estudio (Capítulo III), en contraste con lo obtenido en el primer estudio, la JR en ovejas postparto no modificó el tiempo e inicio a estro ($p > 0.05$). El inicio a estro se prolongó en todos los tratamientos de este estudio, en comparación a la respuesta obtenida en el estudio 1, y la reportada por Ronquillo *et al.* (2008), pero inferior al reportado por Castillo-Maldonado *et al.* (2013) en ovejas de pelo postparto.

La duración del estro se incrementó en las ovejas en amamantamiento continuo y controlado con JR ($p < 0.05$). Mostafa *et al.* (2008) también reportan que la JR prolonga la duración del estro. Este efecto puede ser atribuido a la actividad de la JR, mediada por los receptores a estrógenos y cambios en la expresión génica (Mishima *et al.*, 2005; Suzuki *et al.*, 2008; Moutsatsou *et al.*, 2010), o a un efecto directo a nivel central, al modificar algunos neurotransmisores relacionados con el eje reproductivo, entre ellos dopamina (Salem, 2013). Las variables respuesta y retorno a estro, tasa de ovulación, porcentaje de gestación, parición, prolificidad y fecundidad, no fueron modificadas ($p > 0.05$) por el tipo de amamantamiento o aplicación de JR. Sin embargo, el porcentaje de gestación (50 % y 81.2 % al día 35 y 55 PP) es superior al reportado por Ungerfeld y Sanchez-Davila (2012) en ovejas Corriedale postparto, y similar al obtenido por Ronquillo *et al.* (2008) en ovejas Pelibuey.

En el tercer estudio (Cápitulo IV), el tipo de amamantamiento (continuo o controlado) y la aplicación de JR no modificaron los días PP a la ovulación. Después del destete, con la introducción del carnero al corral de las ovejas, se estimuló la presentación del estro, y la manifestación de signos de estro en las ovejas provenientes de amamantamiento continuo sin JR se presentó en menor tiempo ($p < 0.05$), es posible que este resultado esté relacionado con el efecto estresante que causado por la separación de los corderos y la presencia del carnero. Por otra parte, la JR

incrementó la duración de estro ($p < 0.05$) en las ovejas mantenidas en ambas modalidades de amamantamiento (continuo o controlado), similar a los reportado por Mostafa *et al.* (2008), y lo obtenido en el segundo estudio. El protocolo de manejo reproductivo utilizado al momento del destete, permitió que 100 % de las ovejas provenientes de amamantamiento controlado, con y sin la administración de JR fueron diagnosticadas gestantes ($p < 0.05$). Este resultado para porcentaje de gestación, es similar al reportado por Castillo-Maldonado *et al.* (2013) con un protocolo de inducción de estros con CIDR y efecto macho. La prolificidad y fecundidad no fueron modificadas por la JR o el tipo de amamantamiento, resultado similar al encontrado en el segundo estudio.

La respuesta reproductiva obtenida en este estudio, muestra que la estrategia de restricción de amamantamiento y aplicación de JR, es similar a la reportada con protocolos de manejo reproductivo que involucran el uso de hormonas exógenas. Por lo que esta estrategia es una alternativa viable para el control reproductivo.

CONCLUSIONES GENERALES

En ovejas de pelo cíclicas tratadas con JR, la tasa de ovulación, porcentaje de gestación, prolificidad y fecundidad, son similares a las obtenidas con el uso de eCG.

La inducción del estro con CIDR por nueve días, en ovejas en el postparto temprano, hace posible que 81 % de las ovejas se encuentren gestantes a los 55 días PP. La aplicación de JR incrementó la duración del estro en ovejas en el periodo postparto y al momento del destete.

El control del amamantamiento y administración de JR son estrategias viables para mejorar la respuesta reproductiva en ovejas de pelo, en sistemas de producción limpia. Sin embargo, es necesario realizar la evaluación de otras actividades biológicas de la JR en las ovejas tratadas con esta sustancia.

LITERATURA CITADA

- Abd-Allah, S. M. 2012. Effect of Royal jelly on viability and in vitro maturation of Egyptian sheep oocytes in serum supplemented medium. *B. J. Pharmacol. Toxicol.* 3: 29–32.
- Abdelhafiz, A.T., and J. A. Muhamad. 2008. Midcycle pericoital intravaginal bee honey and royal jelly for male factor infertility. *Int J Gynaecol Obstet.* 101: 146-149.
- Abecia, J. A., and F. Forcada. 2011. Pharmaceutical control of reproduction in sheep and goats. *Vet. Clin. Food Anim.* 27: 67–79.
- Albert, S., and J. Klaudiny. 2004. The MRJP/yellow protein family of *Apis mellifera*: Identification of new members in the EST library. *J. Insect Physiol.* 50 (1): 51–59.
- Aluja, A.S. 2011. Bienestar animal en la enseñanza de Medicina Veterinaria y Zootecnia, ¿Por qué? Y ¿para qué? *Veterinaria México.* 42: 137-147.
- Argüello-Hernández, H.J., C. Cortez-Romero, R.I. Rojas-Martínez, LO. Segura-León, J.G. Herrera-Haro, J. Salazar-Ortiz, y J. Gallegos-Sánchez. 2014. Polimorfismos de la proteína 15 morfogénica ósea (BMP15) asociados al tipo de parto en la oveja pelibuey. *Agrociencia.* 48: 53–69.
- Arroyo, J., H. Magaña-Sevilla, and M. A. Camacho-Escobar. 2009. Regulación neuroendocrina del anestro posparto en la oveja. *Trop. Subtrop. Agroecosyst.* 1(6): 117–122.
- Arroyo, J., M. A. Camacho-Escobar, N. Y. Ávila-Serrano, and J. A. Hoffman. 2011. “Influence of Restricted Female-Lamb Contact in Length of Postpartum Anestrous in Pelibuey Sheep.” *Trop. Subtrop. Agroecosyst.* 14: 643–48.
- Avendaño, L., F. D. Alvarez, J.Salomé, A. Correa, L. Molina, and F. J. Cisneros. 2004. Evaluación de algunos rasgos productivos del borrego Pelibuey en el noroeste de México . Resultados preliminares. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola.* 38:2. 131–136.

- Ascari, I., N. G. Alves, A. C. Alves, I. F. F. Garcia, and F. B. Junqueira. 2016. Resumption of cyclic ovarian activity in postpartum ewes: A review. *Semin: Cien. Agrar.* 37: 1101–1116.
- Ashworth, C. J., L. M. Toma, and M. G. Hunter. 2009. Nutritional effects on oocyte and embryo development in mammals: implications for reproductive efficiency and environmental sustainability. *Philos T. Roy Soc. B.* 364: 3351–3361.
- Bari, F., M. Khalid, W. Haresign, A. Murray, and B. Merrell. 2003. Factors affecting the survival of sheep embryos after transfer within a MOET program. *Theriogenology* 59: 1265–1275.
- Bilodeau-Goeseels, S., and J. Kastelic. 2003. Factors affecting embryo survival and strategies to reduce embryonic mortality in cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 83: 659–671.
- Bodin, L. P., V. Drion, B. Remy, G. Brice, Y. Cognié, and J. F. L. Beckers. 1997. Anti-PMSG antibody levels in sheep subjected annually to oestrus synchronisation. *Reprod. Nutr. Dev.* 37: 651–660.
- Boselli, E., M. F. Carboni, A. G. Sabatini, G. L. Marcazzan, and G. Lecker. 2003. Determination and changes of free amino acids in royal jelly during storage. *Apidologie.* 34: 129–137.
- Castillo-Maldonado, P. P., H. Vaquera-Huerta, L. A. Tarango-Arambula, P. Pérez-Hernández, A. C. Herrera-Corredor, y J. Gallegos-Sánchez. 2013. Restablecimiento de la actividad reproductiva posparto en ovejas de pelo. *Archivos de Zootecnia*, 62: 419–428.
- Cruz- Espinoza, F. 2011. “Efecto macho” y su relación con el anestro postparto en la oveja pelibuey amamantando. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. pp 40.
- Davis, G. H. 2005. Major genes affecting ovulation rate in sheep. *Genet. Sel. Evol.* 37 (suppl 1): 11–24.
- De la Isla, H. G., A. Ayala-Burgos, R. Aké-López, and A. González-Bulnes. 2011. Effects of body condition change over oestrus, follicular development and ovulation rate in Pelibuey ewes under tropical conditions. *Trop. Subtrop. Agroecosyst.* 14: 337–347.

- De la Isla, H. G., L. J. R. Aké, B. A. Ayala, y A. González-Bulnes. 2010. Efecto de la condición corporal y la época del año sobre el ciclo estral, estro, desarrollo folicular y tasa ovulatoria en ovejas Pelibuey mantenidas en condiciones de trópico. *Vet. Méx.* 41(3): 167–175.
- Delgadillo, J. A., and G. B. Martin. 2015. “Alternative Methods for Control of Reproduction in Small Ruminants: A Focus on the Needs of Grazing Industries.” *Animal Frontiers* 5 (1): 57–65.
- 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. *J. Anim. Sci.* 85:1274–1284.
- Dzopalic, T., D. Vucevic, S. Tomic, J. Djokic, I. Chinou, and M. Colic. 2011. 3,10-Dihydroxy-decanoic acid, isolated from royal jelly, stimulates Th1 polarising capability of human monocytederived dendritic cells. *Food Chem.* 126(3): 1211–1217.
- El-hanoun, A., A. E. Elkomy, W. A. Fares, and H. Shahien. 2014. “Impact of royal jelly to improve reproductive performance of male rabbits under hot summer conditions,”. *World Rabbit Sci.* 22: 241-248.
- Elnagar, S. A. 2010. Royal jelly counteracts bucks’ “summer infertility” *Anim. Reprod. Sci.* 121: 174–180.
- Fabre, S., A. Pierre, P. Mulsant, L. Bodin, E. Di Pasquale, L. Persani, P. Monget, and D. Monniaux. 2006. Regulation of ovulation rate in mammals: contribution of sheep genetic models. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 4.20.
- FAO. 2002. *Agricultura mundial hacia los años 2015/2030. Informe resumido.* pp 97.
- FAO. 2009. *Como alimentar al mundo en el año 2050. Foro de expertos de alto nivel.* Roma 12 y 13 de octubre 2009. pp 4.

- Fraire-Cordero, S. 2015. “Estrategia socio sexual y farmacológica para restablecer la actividad ovárica postparto en ovejas de pelo”. Tesis de Doctorado. Colegio de Postgraduados. pp 131.
- Garcia-Amoedo, L.H. y L.B. Almeida-Muradian. 2007. Physicochemical composition of pure and adulterated royal jelly. *Quim. Nova*, 30(2): 257–259.
- García, E. 1988. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen 4ª edición. México: Ed. FOSET. p 194.
- Ghanbari, E., V. Nejati, G. Najafi, M. Khazaei, and M. Babaei. 2015. “Study on The Effect of Royal Jelly on Reproductive Parameters in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats.” *Int J Fertil Steril*. 9 (1): 113–20.
- Guo, H., Y. Kouzyna, y M. Yonejura. 2009. Structure of properties of antioxidative peptides derived from royal jelly protein. *Food Chem*. 113:238–245.
- Gutierrez, C.G., S. Ferraro, V. Martinez, A. Saharrea, C. Cortez, A. Lassala, H. Basurto, and J. Hernandez. 2011. Increasing ovulation quota: More than a matter of energy. *Acta Scientiae Veterinariae*, 39 (SUPPL. 1): 305–316.
- Hardy, G. 2000. Nutraceuticals and functional foods: Introduction and meaning. *Nutrition*. 16: 688–689.
- Hassan, A. A. 2009. Effect of royal jelly on sexual efficiency in adult male rats. *Iraqi J. Vet. Sci*. 23(suppl II): 155–160.
- Hattori, N.H., H. N. Nomoto, H. F. Fukumitsu, S. M. Mishima, and S. F. Furukawa. 2007. Royal jelly and its unique fatty acid , 10-hydroxy-trans-2-decenoic acid , pro- mote neurogenesis by neural stem / progenitor cells in vitro. *Biomed. Res*. 28(5): 261–266.
- Herrera, J., H. Jordán, y 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.

- Hervé, V., F. Roy, J. Bertin, F. Guillou, and M. Maurel. 2004. Antiequine Chorionic Gonadotropin (eCG) Antibodies Generated in Goats Treated with eCG for the Induction of Ovulation Modulate the Luteinizing Hormone and Follicle-Stimulating Hormone Bioactivities of eCG Differently. *Endocrinology* 145: 294–303.
- Hidaka, S., Y. Okamoto, S. Uchiyama, A. Nakatsuma, K. Hashimoto, S. T. Ohnishi, and M. Yamaguchi. 2006. Royal Jelly Prevents Osteoporosis in Rats: Beneficial Effects in Ovariectomy Model and in Bone Tissue Culture Model. *Evid Based Complement Altern Med.* 3 (3): 339–348.
- Husein, M. Q., and H. A. Ghozlan. 2007. The Effect of Royal Jelly and/or Equine Chorionic Gonadotropin on Reproductive Responses of Seasonally Anestrous Awassi Ewes Induced to Estrus Using Progesterone. *Jordan J. Agr. Sci.* 3: 41–51.
- Husein, M. Q., and R. T. Kridli. 2002. “Reproductive Responses Following Royal Jelly Treatment Administered Orally or Intramuscularly into Progesterone-Treated Awassi Ewes”. *Anim. Reprod. Sci.* 74 (1–2): 45–53.
- Husein, M. Q., and S. G. Haddad. 2006. “A New Approach to Enhance Reproductive Performance in Sheep Using Royal Jelly in Comparison with Equine Chorionic Gonadotropin.” *Anim. Reprod. Sci.* 93 (1–2): 24–33.
- Kamakura, M. 2011. Royalactin induces queen differentiation in honeybees. *Nature* 473: 478–483.
- Kodai, T.K., K. U. Umebayashi, T. N. Nakatani, K. I. Ishiyama, N. N. Noda. 2007. Compositions of Royal Jelly II . Organic Acid Glycosides and Sterols of the Royal Jelly of Honeybees (*Apis mellifera*). *Chem. Pharm. Bull.* 55(10): 1528–1531.
- Kohguchi, M., S. Inoue, S. Ushio, K. Iwaki, M. Ikeda, and M. Kurimoto. 2004. Effect of royal jelly diet on the testicular function of hamsters. *Food Sci. Technol. Res.* 10: 420–423.

- Koya-Miyata, S., I. Okamoto, S. Ushio, K. Iwaki, M. Ikeda, and M. Kurimoto. 2004. Identification of a collagen production-promoting factor from an extract of royal jelly and its possible mechanism. *Biosci Biotechnol Biochem.* 68(4): 767–773.
- Kridli, R. T., M. Q. Husein, and W. D. Humphrey. 2003. “Effect of Royal Jelly and GnRH on the Estrus Synchronization and Pregnancy Rate in Ewes Using Intravaginal Sponges.” *Small Rumin Res.* 49 (1): 25–30.
- Kridli, R. T. and S. S. Al-Khetib. 2006. Reproductive responses in ewes treated with eCG or increasing doses of royal jelly. *Anim. Reprod. Sci.* 92: 75–85.
- Lercker, G., P. Capella, L. S. Conte, F. Ruini, and G. Giordani. 1982. Components of royal jelly II. The lipid fraction, hydrocarbons and sterols. *J. Apic. Res.* 21:178–84.
- Lewis, R. 2004. *The Infertility Cure: The Ancient Chinese Wellness Program for Getting Pregnant and Having Healthy Babies.* Little Brown and Company: 303 pp.
- Majtán, J., E. Kovacova, K. Bilikova, and J. Simuth. 2006. The immunostimulatory effect of the recombinant apalbumin 1-major honeybee royal jelly protein-on TNF alpha release. *Int Immunopharmacol.* 6: 269-278.
- Manes, J., and R. Ungerfeld. 2015. Sincronización de celos en ovejas y cabras con dispositivos intravaginales liberadores de progestágenos: alteraciones en ambiente vaginal y su relación con la fertilidad. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* 39(1): 104–108.
- Martin, G. B. and H. Kadokawa. 2006. “Clean, Green and Ethical” Animal Production. Case Study : Reproductive Efficiency in Small Ruminants. *J. Reprod. Develop.* 52: 145–152.
- Martin, G. B., J. T. Milton, R. H. Davidson, G. E. Banchero, D. R. Lindsay and D. Blache. 2004. Natural methods for increasing reproductive efficiency in small ruminants. *Anim. Reprod. Sci.* 82–83: 231–246.

- Martin, G. B. 2009. The “ Clean , Green and Ethical ” Concept in Animal Production El Concepto “ Limpio, Verde y Ético ” en Producción Animal. *Agrociencia*. 13(3):1–7.
- Martínez-Rojero, R. D., L R. Santamaría, G. Torres Hernández, Mastache, L.A.A., y A. C. Michel-Aveces. 2011. Evaluación de la fertilidad y prolificidad en ciclos reproductivos de ocho meses durante tres estaciones en ovejas pelibuey en el trópico seco Mexicano. *Rev. Cient.* 21(5): 383–387.
- Mishima, S., K. Suzuki, Y. Isohama, N. Kuratsu, Y. Araki, M. Inoue, and T. Miyata. 2005a. Royal jelly has estrogenic effects in vitro and in vivo. *J Ethnopharmacol.* 101: 215–220.
- Mishima, S., T. Miyata, K. M. Suzuki, Y. Araki, Y. Akao, and Y. Isohama. 2005b. Estrogenic effects of royal jelly. *J. Trad, Med.*, 22(suppl), pp.171–175.
- Montiel, F. and C. Ahuja. 2005. Body condition and suckling as factors influencing the duration of postpartum anestrus in cattle : a review. *Anim. Reprod. Sci.* 85: 1–26.
- Montiel-Castelán, M.I. 2014. “Efecto macho” en la ovulación postparto”. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. pp 54.
- Moradi, A. R., H. Malekinejad, F. Farrokhi-Ardabili, and I. Bernousi. 2013. Royal Jelly improves the sperm parameters of ram semen during liquid storage and serves as an antioxidant source. *Small Rumin. Res.* 113: 346–352.
- Morales, T. G., C. A. Herrera-Corredor, P. Pérez-Hernández, J. Salazar-Ortiz, and J. Gallegos-Sánchez. 2011. “Influence of controlled suckling and the male effect.” *Trop. Subtrop. Agroecosyst.* 13: 493–500.
- Morales, T. G., M. A. Pro, S. B. Figueroa, del R. Sánchez, y S. J. Gallegos. 2004. Amamantamiento continuo o controlado y su relación con la duración del anestro postparto en ovejas pelibuey. *Agrociencia*, 38(2):165–171.

- Mostafa, A.S., S. M. Abd-Allah, S. A. Ali, and S. N. Abdel-Azeem. 2008. Reproductive Influence following oral royal jelly administration on postpartum ewes. *Egypt J. Basic Appl. Physiol.* 7(1):7–35.
- Moutsatsou, P., Z. Papoutsis, E. Kassi, N. Heldring, C. Zhao, A. Tsiapara, E. Melliou, G. P. Chrousos, I. Chinou, A. Karshikoff, and L. Nilsson. 2010. Fatty Acids Derived from Royal Jelly Are Modulators of Estrogen Receptor Functions. *PLoS ONE*, 5(12): 1–10.
- Murphy, B. D. 2012. Equine chorionic gonadotrophin: an enigmatic but essential tool. *Anim Reprod.* 9 (3): 223–230.
- Nagai, T., and R. Inoue. 2004. Preparation and the functional properties of water extract and alkaline extract from royal jelly. *Food Chem.* 84(2): 181–186.
- Okamoto, I., Y. Taniguchi, T. Kunikata, K. Kohno, K. Iwaki, M. Ikeda, and M. Kutimoto. 2003. Major royal jelly protein 3 modulates immune responses in vitro and in vivo. *Life Sci.* 73: 2029-2045.
- Pavel, C.I. Mărghitaș, L. A. I., Bobiș, O., Dezmirean, D. S., Șapcaliu, A., Radoi, I., Mădaș, M.N. 2011. Biological Activities of Royal Jelly - Review. *Spasb.* 44(2): 108–118.
- Pérez-Hernández, P., V. M. Hernández-Valdéz, B. Figueroa- Sandoval, G. Torres-Hernández, P. Díaz- Rivera, and J. Gallegos-Sánchez. 2009. Efecto del tipo de amamantamiento en la actividad ovárica postparto de ovejas pelibuey y tasas de crecimiento de corderos en los primeros 90 días de edad. *Rev. Cient.* 19(4):343–349.
- Pérez-Ruiz, E. 2012. Factor 9 de crecimiento y diferenciación asociado al índice de prolificidad en la oveja Pelibuey. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. pp 42.
- Perón, N. 2010. Características reproductivas del ovino pelibuey en cuba. Revisión bibliográfica. *Ciencia y Tecnología Ganadera*, 4(1).1–22.

- Presoto, A.E., D.G. Rios, and B. Almeida-Muradian. 2004. Simultaneous High Performance Liquid Chromatographic Analysis of Vitamins B1, B2 and B6 in Royal Jelly. *J. Braz. Chem. Soc.* 15: 136-139.
- Ramadan, M.F., and A. Al-Ghamdi. 2012. Bioactive compounds and health-promoting properties of royal jelly: A review. *J Funct Foods.* 4(1). 39–52.
- Romero, Y.O. y M.S. Bravo. 2012. Alimentación y nutrición en los ovinos. In *Fundamentos de la producción ovina en la Región de La Araucanía.* Boletín N. 245. 24–40.
- Ronquillo, J. C., M. Pro, C. M. Becerril, S. B. Figueroa, G. B. Martín, J. Valencia, and S J. Gallegos. 2008. Prevention of suckling improves postpartum reproductive responses to hormone treatments in Pelibuey ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 107(1–2): 85–93.
- Sabatini, A.G., G. L. Marcazzan, M. F. Caboni, S. Bogdanov, and B. Almeida-Muradian. 2009. Quality and standardisation of Royal Jelly. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science.* 1: 1-6.
- Salazar-Olivo, L.A., and V. Paz-González. 2005. Screening of biological activities present in honey (*Apis mellifera*) royal jelly. *Toxicol. in vitro.* 19: 645-651.
- Salem, F.E.H. 2013. Modulatory effects of trifolium pretense extract and royal jelly on the function of hypothalamic-pituitary-ovarian axis in ovariectomized rats. *Int J Pharm Pharm Sci.* 5: 593-597.
- Sánchez- Dávila, F., H. Bernal, J. Colín, E. Olivares, A.S. del Bosque, R. Ledezma, and R. Ungerfeld, R. 2011. Environmental factors and interval from the introduction of rams to estrus in postpartum Saint Croix sheep. *Trop Anim Health Prod.* 43(4): 887–891.
- SAS, I. 2012. System Requirements for SAS® 9.3 Foundation for Microsoft® Windows®. p 30.
- 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. *Reprod. Nutr. Dev.* 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. *Reprod. Fertil. Dev.* 23: 444–467.

Simúth, J. 2001. Some properties of the main protein honeybee (*Apis mellifera L.*) royal jelly. *Apidologie.* 32: 69-80.

Stocker, A., P. Schramel, A. Kettrup, and E. Bengsch. 2005. Trace and mineral elements in royal jelly and homeo static effects. *J Trace Elem Med Biol.* 19: 183–189.

Suzuki, K., Y. Isohama, H. Maruyama, Y. Yamada, Y. Narita, S. Ohta, Y. Araki, T. Miyata, and S. Mishima. 2008. Estrogenic Activities of Fatty Acids and a Sterol Isolated from Royal Jelly. *Evid Based Complement Alternat Med.* 5:295–302.

Svoboda, J.A., E. W. Herbert, and M.J. Thompson. 1986. Sterols of organs involved in brood food production and of royal jelly in honey bees. *Insect Biochem.* 16: 479–482.

Takenaka, T., K. Yatsunami, and T. Echigo. 1986. Changes in quality of royal jelly during storage. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi.* 33: 1-7.

Ungerfeld, R. and F. Sanchez-Davila. 2012. Oestrus synchronization in postpartum autumn-lambing ewes : effect of postpartum time, parity, and early weaning. *Span. J. Agric. Res.* 10 (1): 62–68.

Valiollahpoor, A. M., H. Delhar, and P. Ansari. 2015. Impact of supplementary royal jelly on in vitro maturation of sheep oocytes : Genes involved in apoptosis and embryonic development. *Syst Biol Reprod Med.* 62 (1): 31-38.

- Viñoles, C., A.Meikle, and G.B. Martin. 2009. Short-term nutritional treatments grazing legumes or feeding concentrates increase prolificacy in Corriedale. *Anim. Reprod. Sci.*. 113. 82-92.
- Wheeler, D.E., N. Buck, and J. D. Evans. 2006. Expression of insulin pathway genes during the period of caste determination in the honey bee, *Apis mellifera*. *Insect Mol. Biol.* 15(5): 597–602.
- Yang, X.Y., D. S Yang, Wei-Zhang, J. M. Wang, C. Y. Li, Hui Ye, K.F. Lei K.F, X.F. Chen, N.H. Shen, L.Q. Jin, and J.G. Wang. 2010. 10-Hydroxy-2-decenoic acid from royal jelly: A potential medicine for RA. *J Ethnopharmacol.* 128(2): 314–321.
- Zahmatkesh, E., G. Najafi, V. Nejati, and R. Heidari. 2014. Protective effect of royal jelly on the sperm parameters and testosterone level and lipid peroxidation in adult mice treated with oxymetholone. *Avicenna J Phytomed.*4(1): 43–52.