

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

Departamento de Enseñanza, Investigación y Servicio en
Zootecnia

**PARÁMETROS REPRODUCTIVOS EN OVEJAS DE PELO EN LA ÉPOCA
DE ANESTRO Y REPRODUCTIVA SUPLEMENTADAS CON GLICEROL**

TESIS

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
EN PRODUCCIÓN ANIMAL**

PRESENTA:

Román Méndez Castillo

Chapingo, Estado de México, Mayo de 2007

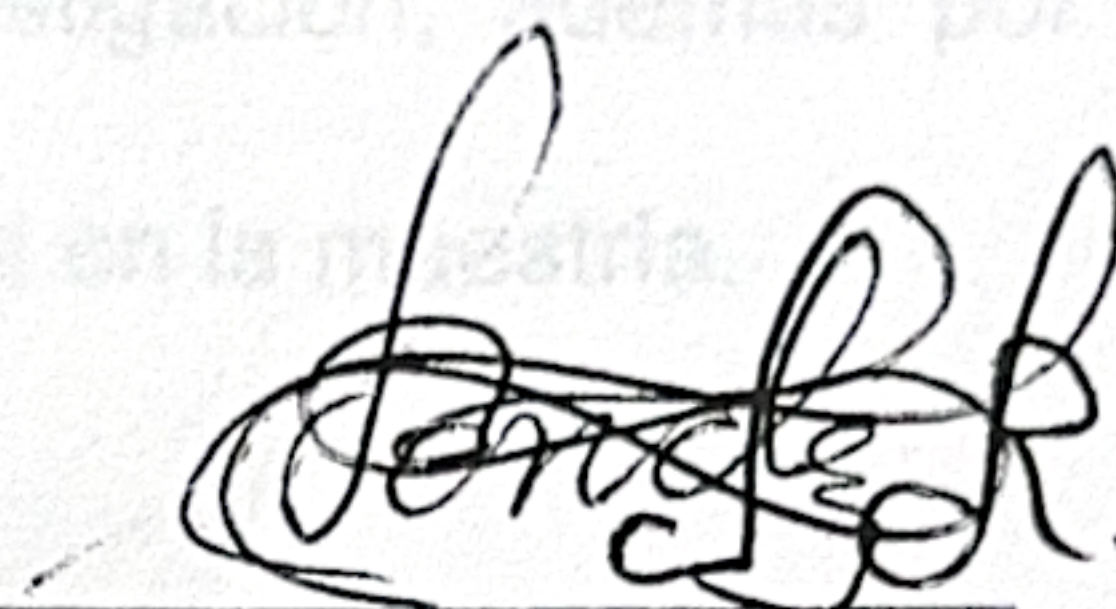


PARÁMETROS REPRODUCTIVOS EN OVEJAS DE PELO EN LA ÉPOCA DE ANESTRO Y REPRODUCTIVA SUPLEMENTADAS CON GLICEROL

Tesis realizada por **Román Méndez Castillo** bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada y aceptada por el mismo como requisito parcial para obtener el grado de:

Maestro en Ciencias en Producción Animal

DIRECTOR:



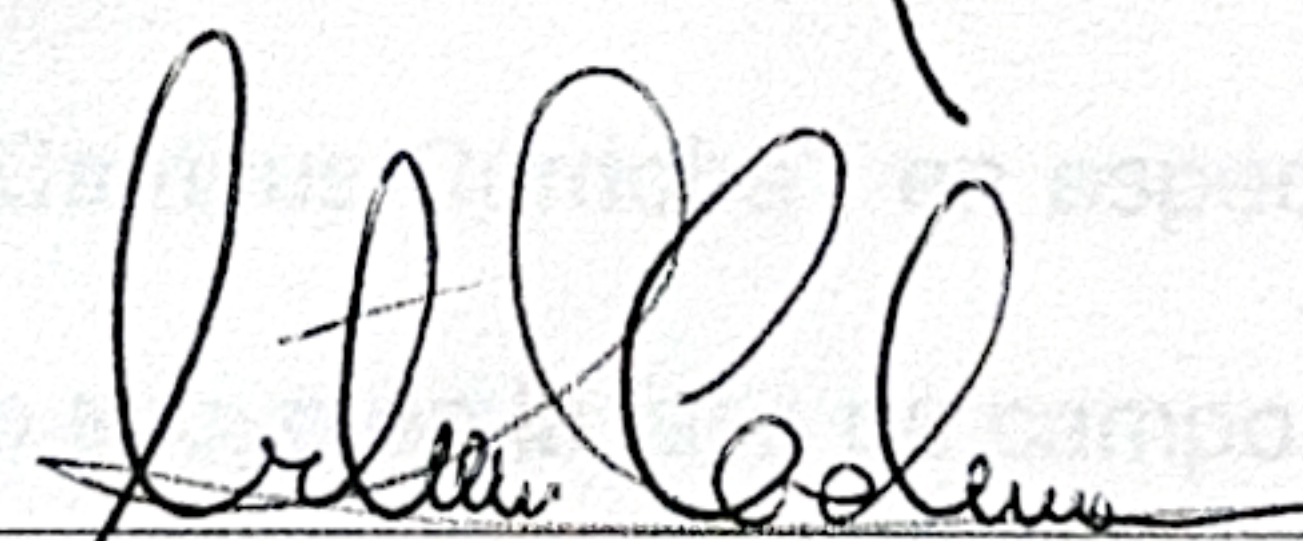
M.C. Carlos Sánchez del Real

ASESOR:



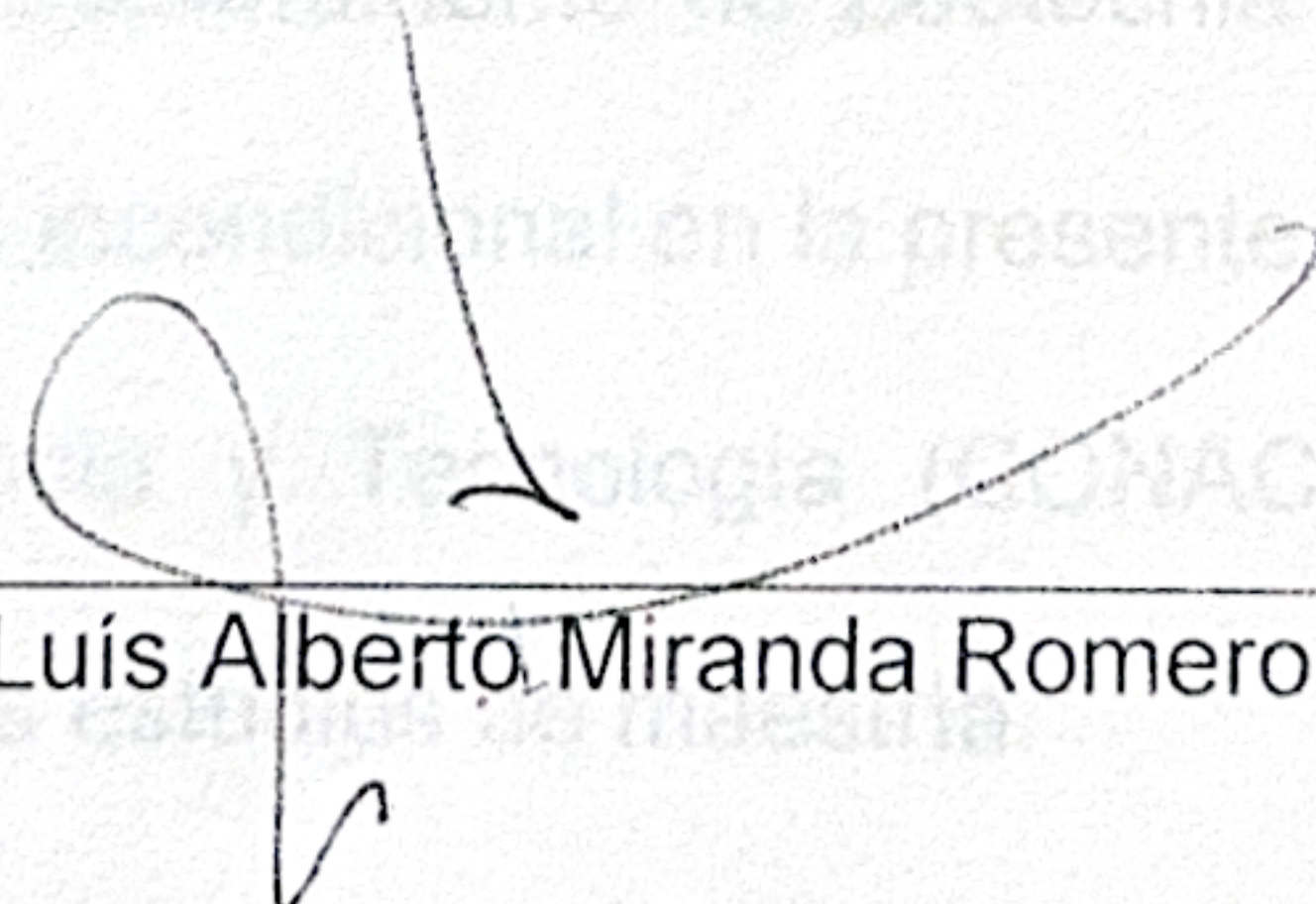
Dr. Jaime Gallegos Sánchez

ASESOR:



Dr. José Artemio Cadena Meneses

ASESOR:



Dr. Luís Alberto Miranda Romero

A - 4408

AGRADECIMIENTOS

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

A la Universidad Autonoma Chapingo, al Departamento de Zootecnia y al Posgrado en Producción Animal por mi formación profesional.

Al M.C. Carlos Sánchez del Real, por su valioso apoyo como director en el desarrollo y elaboración de esta investigación, además por sus consejos y confianza brindados durante mi estancia en la maestría.

Al Dr. Jaime Gallegos Sánchez, José Artemio Cadena Meneses, Luís Alberto Miranda y al M.C. Carlos Guillermo Germán Alarcón por su tiempo, dedicación y acertadas sugerencias para llevar acabo y culminar la presente investigación.

Al Colegio de Postgraduados “Campus Córdoba”, en especial al encargado del modulo de ovinos por su valioso apoyo en la fase de campo.

Al personal administrativo del Departamento de Zootenia y del Posgrado en Producción Animal por el apoyo incondicional en la presente investigación.

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

DEDICATORIA

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

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

A mi hija Yelizabeth por ser el motor de seguir triunfando y darme fuerzas para esquivar las barreras que se presentan en la vida. “Te quiero Yely”.

A la Familias Flores Buendía y Buendía Espinoza por su apoyo incondicional y amistad que me han brindado “GRACIAS”, en especial a mi novia Jocelyn por su apoyo en todos los sentidos.

Al todos mis compañeros y amigos del equipo de básquet-bol como Jorge, Jose Luis, Valentin, Karin, Memo, Lemus, Fute, Reyes, Pelones y a companeross del posgrado como Cach, Cheque, Marisela, Alma, Miguel Angel, Tereza, Pablo.

Y a todos que no creyeron que lo lograría.

DATOS BIOGRAFICOS

DATOS PERSONALES

Nombre: **Román Méndez Castillo**

Fecha de nacimiento: **18 de Agosto de 1981**

Lugar de nacimiento: **Puebla, Puebla**

Profesión: **Ingeniero Agrónomo Especialista en Zootecnia**

Cedula profesional: **4212731**

FORMACION ACADEMICA

1987-1993: **Escuela primaria “Benito Juárez” San Antonio Rayón, Jonotla, Puebla**

1993-1996: **Escuela Telesecundaria “David Alfaro Sequeiros” San Antonio Rayón, Jonotla, Puebla**

1996-1999: **Preparatoria Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo México**

1996-2003: **Departamento de Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo México**

2006-2007: **Posgrado en Producción Animal, Departamento de Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo**

ÍNDICE DE CONTENIDO

PARÁMETROS REPRODUCTIVOS EN OVEJAS DE PELO EN LA ÉPOCA DE ANESTRO SUPLEMENTADAS CON GLICEROL	vii
FERMENTACIÓN RUMINAL DE GLICEROL Y SU EFECTO EN LOS PARÁMETROS REPRODUCTIVOS EN OVEJAS DE PELO	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
CAPÍTULO I	1
INTRODUCCIÓN GENERAL	2
CAPÍTULO II	5
REVISIÓN DE LITERATURA	6
Antecedentes	6
Ciclo estral	7
Perfiles hormonales durante el ciclo estral	9
Secreción de gonadotropinas	10
Secreción de estradiol	11
Secreción de progesterona	12
Desarrollo folicular	13
Foliculogénesis	13
Oleadas foliculares	15
Tasa ovulatoria	18
Influencia de la nutrición en la reproducción	20
Influencia de la energía en la reproducción	21
Energía	25
Lípidos	26
Funciones de los lípidos	27
Hidrólisis de los ácidos grasos	28
Lipólisis	29
Biohidrogenación de los ácidos grasos	29
Síntesis de lípidos en el rumen	31
Ácidos grasos libres	32
Digestión de los ácidos grasos en el intestino	33
Metabolismo y transporte de triglicéridos	35
Clasificación de las grasas de acuerdo con el efecto nutricional	35
Glicerol	38
Técnica de fermentación de gas	39
CAPÍTULO III	43
LITERATURA CITADA	44
CAPÍTULO IV	60
PARÁMETROS REPRODUCTIVOS EN OVEJAS DE PELO DURANTE LA ÉPOCA DE ANESTRO ESTACIONAL SUPLEMENTADAS CON GLICEROL ..	61

RESUMEN	61
ABSTRACT	63
INTRODUCCIÓN	64
MATERIALES Y MÉTODOS	66
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	69
CONCLUSIÓN	75
AGRADECIMIENTOS	76
LITERATURA CITADA	77
CAPÍTULO V	80
FERMENTACIÓN RUMINAL DE GLICEROL Y SU EFECTO EN LOS PARÁMETROS REPRODUCTIVOS EN OVEJAS DE PELO EN LA ÉPOCA REPRODUCTIVA	81
RESUMEN	81
ABSTRACT	83
INTRODUCCIÓN	84
MATERIALES Y MÉTODOS	86
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	90
CONCLUSIÓN	97
AGRADECIMIENTOS	98
LITERATURA CITADA	99

ÍNDICE DE CUADROS

PARÁMETROS REPRODUCTIVOS EN OVEJAS DE PELO EN LA ÉPOCA DE ANESTRO SUPLEMENTADAS CON GLICEROL

	Página
Cuadro 1. Ingredientes y composición nutritiva de la dieta base experimental.	66
Cuadro 2. Presencia de estro en ovejas de pelo expuestas a un protocolo de sincronización y suplementadas con glicerol ocho días antes de la fecha de inseminación.....	69
Cuadro 3. Tasa de ovulación en ovejas de pelo expuestas a un protocolo de sincronización y suplementadas con glicerol ocho días antes de la fecha de inseminación.....	72
Cuadro 4. Retorno al estro en ovejas de pelo expuestas a un protocolo de sincronización y suplementadas con glicerol ocho días antes de la fecha de inseminación	70
Cuadro 5. Incidencia de gestación en ovejas de pelo expuestas a un protocolo de sincronización y suplementadas con glicerol ocho días antes de la fecha de inseminación.....	73
Cuadro 6. Prolificidad en ovejas de pelo expuestas a un protocolo de sincronización y suplementadas con glicerol ocho días antes de la fecha de inseminación.....	74

FERMENTACIÓN RUMINAL DE GLICEROL Y SU EFECTO EN LOS PARÁMETROS REPRODUCTIVOS EN OVEJAS DE PELO

Cuadro 1. Composición nutritiva estimada de las dietas experimentales.	87
Cuadro 2. Parámetros de fermentación y ácido butírico de las cuatros dietas administradas a ovejas de pelo expuestas a un protocolo de sincronización y suplementadas con glicerol ocho días antes de la fecha de inseminación.....	91
Cuadro 3. Retorno al estro en ovejas de pelo expuestas a un protocolo de sincronización y suplementadas con glicerol ocho días antes de la fecha de inseminación.....	95
Cuadro 4. Incidencia de gestación en ovejas de pelo expuestas a un protocolo de sincronización y suplementadas con glicerol ocho días antes de la fecha de inseminación.....	96

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Volumen fraccional (mL g^{-1}) de gas producido por la fermentación ruminal <i>in vitro</i> de glicerol y dietas suplementadas con glicerol.	93
Figura 2. Volumen acumulado (mL g^{-1}) de gas producido por la fermentación ruminal <i>in vitro</i> de glicerol y dietas suplementadas con glicerol.	93
Figura 3. Proporción molar (%) de acético a 12 y 24 horas de fermentación ruminal <i>in vitro</i> de glicerol y dietas suplementadas con glicerol.	95
Figura 4. Proporción molar (%) de propiónico a 12 y 24 horas de fermentación ruminal <i>in vitro</i> de glicerol y dietas suplementadas con glicerol.	95

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN GENERAL

En años recientes, los ovinos de pelo en México han incrementado por su adaptación a distintos climas, por su rusticidad y por su eficiencia reproductiva (Nuncio-Ochoa *et al.*, 2001). Las razas de pelo se destinan principalmente a la producción de carne, aun cuando presentan tasas de crecimiento y peso corporal menores que las razas de lana (Ortiz *et al.*, 2000). El inventario de ovinos de pelo en México ha aumentado y actualmente representa un porcentaje considerable del inventario ovino nacional. Las razas de pelo han sostenido la oferta de ganado nacional, al tener cada día mayor presencia en el mercado de carne fresca.

En la mayoría de los animales domésticos y silvestres, durante algunos estados fisiológicos, la energía es indiscutiblemente el regulador más potente de la función reproductiva debido a que la reproducción es muy demandante de energía. Las señales fisiológicas actúan principalmente a nivel de ovario y en menor grado en los sistemas neuroendocrinos que controlan la ovulación, con lo que se afecta la tasa ovulatoria y en consecuencia la prolificidad (Blache, 2003).

El éxito de una explotación ovina depende, entre otros factores, de obtener altos parámetros reproductivos, como el número de corderos/hembra/año, conocido como prolificidad, el cual a su vez está influido por la tasa ovulatoria y a su vez ésta es influida por el estado nutricional de la oveja (Blache, 2003).

Se ha buscado incrementar la tasa de ovulación por medio de tratamientos hormonales, programas de mejoramiento genético y estrategias nutricionales. Dentro de estas últimas, destaca la estrategia de incrementar el aporte energético nutricional previo al empadre, práctica conocida como *flushing*, que es una suplementación energética que tiene la finalidad de estimular a los ovarios para que produzcan un mayor número de óvulos e incrementar el número de crías por parto (Blache, 2003). La sobrealimentación durante esta etapa aumenta el reclutamiento folicular y la concentración de insulina circulante en sangre (Downing y Scaramuzzi, 1991). La efectividad del flushing no depende únicamente de la ganancia de peso o de los cambios en condición corporal en los días cercanos a la ovulación, si no que es más aceptado que los efectos nutricionales son mediados de forma importante por la glucosa a través de la insulina, así como por la acción de los factores parecidos a la insulina (IGF-1) a nivel intrafolicular (Blache, 2003).

Para incrementar el aporte energético, se han usado polisacáridos y lípidos, entre estos últimos se han recomendado el uso de los triglicéridos, ya que aportan más del doble de energía por unidad de peso que los polisacáridos (David *et al.*, 2000).

El glicerol es un componente alcohólico de todos los tejidos animales y vegetales (Church y Pond, 1998) y se utiliza como fuente gluconeogénica para aumentar las concentraciones de propionato ruminal, glucosa e insulina en plasma, con la finalidad de mejorar los perfiles hormonales que incidan positivamente en el comportamiento reproductivo de la oveja, así como

también, se ha usado para la prevención de cetosis después del parto y disminuir los problemas metabólicos (Pickett *et al.*, 2003).

En consideración de lo anterior, es importante desarrollar estrategias nutricionales en los ovinos que permitan incrementar la eficiencia reproductiva mediante la suplementación a corto tiempo.

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

Antecedentes

Los ovinos de pelo en México tienen cada vez mayor importancia debido a la gran adaptabilidad a distintos climas, rusticidad y tasa reproductiva. En México, los ovinos de pelo se encuentran principalmente en las regiones tropicales húmedas y secas, aunque en los últimos años es notoria su presencia en el Altiplano Central e inclusive en ciertas regiones del norte del país. Sin embargo, los ovinos de pelo presentan tasa de crecimiento y eficiencia alimenticia menores que los ovinos de lana (Nuncio-Ochoa *et al.*, 2001).

Las características fenotípicas de la raza de pelo son: alzada de 60 a 75 cm, cuerpo cubierto de pelo, varios tipos de color entre café tabasco y blanco que son los predominantes; es un animal rústico, que se adapta a las condiciones tropicales húmedas, alta resistencia a la parasitosis, conserva excelentes índices de fertilidad y comportamiento materno con producción de leche que le permite criar hasta dos o tres corderos (Shelton, 1975). La edad de la oveja influye en la reproducción, y se menciona que a mayor edad mejora el comportamiento reproductivo a través de una mejor respuesta en fertilidad y prolificidad desde el primer año hasta aproximadamente 5 y 7 años de edad (Bunge, 1993).

Ciclo estral

Las ovejas se consideran poliéstricas estacionales; esta estacionalidad es rígida por el fotoperiodo ya que cuando los días son más cortos se presenta la actividad reproductiva la cual es regulada principalmente por la variación en la secreción de melatonina como respuesta a los cambios del fotoperiodo a lo largo del año, porque modifica la retroalimentación negativa de los esteroides en la actividad neuroendocrina (Karsch *et al.*, 1984). Este fenómeno es común en los países ubicados geográficamente al norte y al sur de los trópicos de Cáncer y Capricornio, respectivamente, y se pierde paulatinamente a medida que se acerca al Ecuador (Turner, 1970). Tal es el caso de la oveja Pelibuey que no presenta estacionalidad reproductiva conforme se acerca al Ecuador, siendo capaces de reproducirse todo el año (Valencia *et al.*, 1981). Después del anestro estacional, los ciclos estrales se presentan sucesivamente cada 16 ó 17 días y tienen una duración de 24 a 36 horas la cual es influida por la raza, edad, estación del año y la presencia del macho. Los signos del estro se presentan cuando la vulva está edematosa y que sea evidente una secreción de moco por la vagina y en algunas ocasiones están inquietas por la búsqueda del macho (Hafez y Hafez, 2004).

El ciclo estral se define como el tiempo transcurrido entre dos periodos de estro, donde se presentan eventos regulados por el balance hormonal entre el hipotálamo-pituitaria-gónadas (Hafez, 1952).

Tradicionalmente, el ciclo estral se divide en las siguientes fases: Proestro, es el periodo inmediato que precede el comportamiento estral y es caracterizado por la regresión lútea, y la emergencia y crecimiento de folículos ovulatorios por las gonadotropinas, resultando un incremento en la secreción de estradiol que actúa a nivel hipotálamo para inducir el comportamiento estral, en ausencia de progesterona (Allrich, 1994). Estro, es el periodo de receptividad sexual y cruzamiento que dura de 24 a 48 horas dependiendo de la raza y la edad del animal (Goodman, 1994). La ovulación, es un proceso espontáneo que no requiere del coito y ocurre de 24 a 30 horas después del inicio del comportamiento estral, que va a depender de la estacionalidad, raza, edad, clima y temperatura (Robertson *et al.*, 2000). Proestro y estro se refieren a la fase folicular del ciclo estral. Metaestro, es el periodo en el cual se desarrolla el cuerpo lúteo y es funcional secretando progesterona hasta alcanzar más de 1 ng ml⁻¹, momento que determina el final del metaestro y el inicio del diestro. El diestro, es la etapa más larga del ciclo estral, en la cual el cuerpo lúteo está en plena funcionalidad manteniendo los niveles de progesterona por arriba de 1 ng ml⁻¹.

En particular, en la oveja Pelibuey se tienen evidencias de que la época del año afecta la actividad ovárica, época considerada como de anestro estacional. En México, se ha considerado la época de anestro estacional para esta raza al periodo comprendido entre los meses de enero a mayo, en los que la presentación de estros de manera natural es sólo 15% (Heredia *et al.*, 1991).

Algunos autores se lo atribuyen a los cambios estacionales en la disponibilidad y calidad del forraje o por factores ambientales (González *et al.*, 1992). Lo que concuerda con Martínez *et al.* (1995) quienes encontraron que la oveja Pelibuey presenta un periodo estacional corto y poco profundo presentando sólo un 17% de estros en primavera, de igual manera Valencia *et al.* (1981) determinaron que la hembra Pelibuey presenta estacionalidad reproductiva a una latitud de 21°06' N, independientemente de limitantes nutricionales. Sin embargo esta duración del anestro estacional puede ser disminuida por medio de la selección de ovejas fértiles durante la primavera (Vincent *et al.*, 2000). Algunas ovejas Pelibuey tienen la capacidad de mostrar actividad reproductiva continua durante los meses de anestro estacional y por lo tanto no presentan un anestro estacional verdadero sino periodos de actividad estral reducida en los meses de primavera (Porras *et al.*, 2003).

Perfiles hormonales durante el ciclo estral

Las hormonas que están involucradas con la regulación del ciclo estral son las siguientes: Hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH); estímulo folicular por la hormona folículo estimulante (FSH), hormona luteinizante (LH), prolactina y oxitócina; estrógenos e inhibidores desde los folículos antrales del ovario; progesterona y oxitócina desde el cuerpo lúteo, y prostaglandina F2 α desde el endometrio uterino (Nalbandov, 1969).

Secreción de gonadotropinas

El ciclo estral es una secuencia de eventos endocrinos regulados por el hipotálamo, la glándula pituitaria, el folículo, el cuerpo lúteo y el útero, donde cada evento tiene cambios hormonales subsecuentes (Hafez y Hafez, 2004).

El estímulo del hipotálamo para la secreción de GnRH y por consiguiente la secreción pulsátil de LH de la pituitaria anterior produce la ovulación. La secreción pulsátil de LH está presente en todos los estados reproductivos de la oveja, durante y después del pico preovulatorio de gonadotropinas (Rawlings y Cook, 1993). En ovejas ciclando, la secreción pulsátil ocurre de uno a seis veces durante un periodo de seis horas y se incrementa fuertemente la frecuencia pulsátil de LH durante el pico preovulatorio (Goodman y Karsch, 1981). Mientras que, la FSH tiene baja amplitud pero larga duración, además no es pulsátil aunque en algunas investigaciones fue detectada a nivel hipófisis y circulación periférica durante la fase lútea (Van Cleeff *et al.*, 1995). El cuerpo lúteo empieza a desarrollar y por lo tanto las concentraciones de progesterona empiezan a elevarse durante la fase lútea. La progesterona empieza a aumentar del día 0 al 11 y disminuye por completo el día 15 antes de la ovulación (Bartlewski *et al.*, 1999). Del día 11 al 13 del ciclo estral empieza a incrementar las prostaglandinas para inducir la lúteolisis y como consecuencia bajan las concentraciones de progesterona (Goodman, 1994). La lúteolisis marca el comienzo de la fase folicular. La disminución de los niveles de progesterona da paso a incrementar la frecuencia pulsátil de LH y la estimulación de la secreción de estradiol desde el folículo preovulatorio para dar paso al pico preovulatorio de LH (Karsch *et al.*, 1980). El incremento en la

secreción pulsátil de LH termina la secreción de estradiol ya que provoca la ovulación y luteinización, iniciando un nuevo ciclo estral (Hafez y Hafez, 2004).

Secreción de estradiol

La secreción pulsátil de LH va acompañada con la secreción de 17β -estradiol en ovejas ciclando y en anestro (Scaramuzzi y Baird, 1977), siendo los folículos preovulatorios la principal fuente de secreción de estradiol (Evans *et al.*, 2000). El estradiol tiene su acción a nivel hipotálamo, donde puede ser positiva o negativa; esta última es más marcada en la época de anestro porque tiene la capacidad de disminuir la frecuencia pulsátil de GnRH (Goodman *et al.*, 1982).

Durante el proestro, se desarrollan los folículos preovulatorios que son la principal fuente de secreción de estradiol, presentándose las máximas secreciones de LH y estradiol dando paso al comportamiento estral en la oveja (Allrich, 1994).

En estudios previos, durante el crecimiento folicular antral, se monitorearon los folículos, encontrando de 3 a 4 picos de concentración de estradiol en suero sanguíneo durante un ciclo estral, los cuales coinciden con la fase final de crecimiento de la oleada folicular (Bister *et al.*, 1999). Al día de la ovulación, las concentraciones periféricas de estradiol caen hasta niveles no detectables (Baird *et al.*, 1991). La inducción del estro con estradiol ha sido demostrada con ganado ovariectomizado (Allrich, 1994).

Secreción de progesterona

La secreción de progesterona durante la fase lútea no está asociada a la secreción pulsátil de LH (Baird *et al.*, 1976). Las concentraciones de progesterona a nivel sanguíneo incrementan del día 0 al 11 y muestran un nadir el día 15 después de la ovulación (Bartlewski *et al.*, 1999). Entre sus funciones están: mantener la preñez, actuar en conjunto con otros estrógenos para inducir el estro, inhibir la movilidad uterina y en altas concentraciones inhibe el estro y la oleada preovulatoria de LH (Allrich, 1994, Hafez y Hafez, 2004).

En diversos estudios se ha mostrado que las concentraciones de progesterona fueron mayores en ovejas prolíficas comparadas con las no prolíficas (Cahill y Mauleon, 1981). Sin embargo otros estudios mostraron que las ovejas prolíficas presentan menos concentración de progesterona en comparación a las no prolíficas (Bartlewski *et al.*, 1999), por lo que se observa que se presenta una gran variabilidad de las concentraciones de progesterona entre la raza, estado fisiológico y nivel alimenticio.

El consumo alimenticio puede influir en la concentración de progesterona, con una fuerte correlación negativa con el consumo. Este efecto del consumo en la concentración de progesterona puede deberse a un incremento en la tasa del catabolismo de progesterona y en la circulación hepática de los altos niveles de alimentación, dando paso a reducir la concentración de progesterona y por consiguiente la tasa de preñez (Boland *et al.*, 2001).

Desarrollo folicular

En todas las especies domésticas se presenta una gran cantidad de folículos primordiales, preantrales y antrales en cualquier región de la corteza ovárica (Driancourt, 2001). Asumiendo que el número de folículos que presentan las hembras de cualquier especie está determinado desde su vida fetal (Juengel *et al.*, 2002).

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

Foliculogénesis

El folículo es la unidad estructural y funcional de los ovarios que interactúa con el sistema de retroalimentación, que incluye a la GnRH proveniente del hipotálamo, FSH y LH secretada por la hipófisis, a las hormonas esteroides (estrógenos, andrógenos y progesterona) y a algunas proteínas (inhibina, activina y folistatina) secretadas por el ovario (Gutiérrez, 2001).

La foliculogénesis es el proceso de formación, crecimiento y diferenciación folicular que abarca desde el estadio del folículo primordial hasta el folículo preovulatorio (Guigli *et al.*, 2006).

Los folículos primordiales inician su crecimiento y diferenciación siendo independientes de las gonadotropinas en un proceso aparentemente continuo pero irreversible conocido como foliculogénesis (Roche, 1996). Cuando un folículo primordial entra al grupo de crecimiento, éste será conducido a uno de dos efectos: la degradación por atresia o la ovulación. Cuando la capa de células de la granulosa se transforma de aplanadas a cuboides y la teca interna comienza su diferenciación, al folículo en desarrollo se le denomina folículo primario. Su crecimiento al siguiente estadio, que es el folículo secundario, se completa con la proliferación de las células de la granulosa (Fernández, 2003), y la secreción de otros factores como activina, inhibina, factores de crecimiento de fibroblastos y factores de crecimiento epidermal (Webb *et al.*, 2004). Los folículos de estos dos estadios se describen colectivamente como preantrales.

La formación de la cavidad del folículo, es el siguiente estadio en su desarrollo llamados folículos antrales, que son dependientes de las gonadotropinas cuando tienen un diámetro de 2 mm hasta la ovulación y se caracterizan por tener una cavidad llena de líquido llamada antro, el líquido dentro del antro se llama líquido folicular; que generalmente se acepta que su crecimiento esta bajo la influencia de las gonadotropinas, específicamente por la FSH y adquiriendo capacidad esteroideogénica para transformarse en un folículo dominante preovulatorio llamado folículo de Graaf, que tiene la capacidad de responder al estímulo de la LH, produciendo cambios morfológicos y bioquímicos que finalizarán reiniciando la meiosis y desencadenando la ovulación (Hay y Moor, 1975; Roche, 1996). Por medio de la ultrasonografía se ha observado que esta última fase de desarrollo folicular

se produce en forma de ondas a lo largo de todo el ciclo estral. La duración del crecimiento folicular del estado primordial al estado preovulatorio es de aproximadamente 6 meses (Cahill y Mauleon, 1980), del estado primordial al estado preantral con un diámetro de 0.2 mm de diámetro toma un promedio de 130 días (Cahill y Mauleon, 1981) y de 24 a 30 días más cuando el diámetro es de 0.5 mm y 45 días más cuando el diámetro es de 4.5 a 5 mm de diámetro (Turnbull *et al.*, 1977).

Los folículos dominantes durante el ciclo estral están regulados por la respuesta de folículos seleccionados y no seleccionados en el cohorte folicular para alterar los patrones de selección de gonadotropinas, resultado de la producción de factores estimulatorios a nivel intrafolicular o factores inhibitorios que controlan la selección, dominancia y atresia (Roche, 1996).

Oleadas foliculares

La utilización de la ultrasonografía ha permitido el seguimiento diario de la dinámica folicular de forma atraumática, permitiendo un gran avance en el conocimiento de la fisiología ovárica de la oveja (Rubianes, 2000). Actualmente se sabe que el desarrollo folicular en la mayoría de las especies domésticas sigue un patrón de crecimiento en oleadas que se refiere a un crecimiento periódico y sincronizado de un grupo de folículos (Ginther, 2000). Posteriormente, los folículos antrales que crecen de 3 a 5 mm de diámetro presentan oleadas. Un rango de 2 a 5 oleadas foliculares ocurren en cada ciclo interovulatorio, pero el patrón predominante es de 3 oleadas que emergen respectivamente alrededor de los días 0, 6 y 11 del ciclo estral ovino. Algunos

autores encuentran una cuarta oleada y en este caso la oleada 3 emerge más tempranamente y la oleada 4 emerge el día 14 (Viñoles *et al.*, 2001). Cada oleada folicular le precede un incremento en la secreción de FSH (Webb *et al.*, 2004).

Algunas características más frecuentes observadas en las oleadas foliculares son:

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

Durante el desarrollo de las oleadas foliculares los folículos van adquiriendo características que les permitan seguir creciendo bajo un ambiente endocrino cambiante, por lo que se han dividido las oleadas foliculares en 4 etapas: reclutamiento, selección, dominancia y atresia folicular. El reclutamiento, es un proceso por el que, bajo la acción de la FSH, un conjunto de folículos preantrales tempranos comienzan a crecer en un medio con suficiente soporte gonadotrópico, que les permita llegar a la ovulación (Rubianes, 2000). Algunos

de los folículos reclutados sufren atresia en poco tiempo. Después del reclutamiento, algunos de los folículos que no sufrieron atresia son seleccionados. La selección, es un proceso por el cual un único folículo no sufre atresia y adquiere la capacidad para alcanzar la ovulación. Los folículos seleccionados continúan con su desarrollo y tienen dos caminos posibles convertirse en folículos dominantes o sufrir atresia. Conforme continúan creciendo los folículos seleccionados hacia la dominancia siguen produciendo mayor cantidad de estradiol e inhibina, la cual inhibe la secreción de FSH por la hipófisis anterior. La dominancia, es el medio por el cual el folículo seleccionado inhibe el reclutamiento de una nueva serie de folículos antrales de la cohorte de folículos reclutados y seleccionados. Esta inhibición parece ser ejercida por la acción de la inhibina por parte del folículo dominante y por una reducción en el aporte sanguíneo de algunos folículos (Bartlewski *et al.*, 2000).

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

Tasa ovulatoria

La nutrición es uno de los factores más importantes que afectan la tasa de ovulación. La práctica alimenticia conocida como *flushing* incrementa la incidencia de ovulaciones múltiples, debido a una mejora en el nivel nutricional del consumo o calidad de los suplementos alimenticios, lo que da paso a la entrada de nutrientes a nivel celular, que estimulan la secreción de gonadotropinas o bien actúan directamente en el ovario, aumentando la producción de progesterona (Smith, 1988). Por otra parte, Coop (1996) demostró que el efecto *flushing* sobre la tasa ovulatoria depende de un efecto estático relacionado con el efecto positivo del peso vivo y el efecto dinámico ligado a la rápida mejora de la condición corporal. Al estudiar el efecto estático encontraron que la tasa ovulatoria se incrementó, asociándose a un incremento de FSH y a la disminución de las concentraciones de estradiol durante la fase folicular, comparada con ovejas con baja condición corporal (Viñoles *et al.*, 2002). En contraste, Edey (1968) encontró que la tasa ovulatoria fue independiente del peso vivo en un rango de 37.5 a 53.5 kg y que entre estos extremos se incrementa el 5% por cada 2.5 kg de peso vivo ganado.

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

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

Robinson (1996) mencionó que las alteraciones en la tasa ovulatoria ocurren cuando la cohorte de folículos depende de las gonadotropinas, nutrientes (glucosa, aminoácidos), hormonas metabólicas (insulina, hormonas de crecimiento, IGFs, proteínas) y de la nutrición que pueden alterar la concentración de las gonadotropinas hacia los folículos y por consiguiente alterar la respuesta ovulatoria.

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

El efecto de la condición corporal en la tasa ovulatoria está probablemente, mediada por cambios en el número de folículos grandes que se desarrollaron y que son capaces de sufrir el estado final de crecimiento y desarrollo bajo la influencia hormonal en los últimos dos a tres días antes de la ovulación (Rhind y Mcneilly, 1986).

Por lo que se deduce que los cambios nutricionales en ovejas durante el periodo de cubrición son responsables, al menos en parte, de los cambios en la

secreción de gonadotropinas y en última instancia afectan al crecimiento folicular y la tasa ovulatoria.

Influencia de la nutrición en la reproducción

La nutrición es uno de los principales factores que influye en la función y eficiencia reproductiva en rumiantes, por lo que una inadecuada nutrición ejerce un efecto detrimental en la misma (Dunn y Moss, 1992).

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

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

La inadecuada nutrición en los mamíferos puede retrasar la pubertad (Foster y Olster, 1985; Day *et al.*, 1986), prolongar el anestro (Imakawa *et al.*, 1983, 1984, 1986), y cesar los ciclos estrales en ovejas durante la época reproductiva (Randel, 1990).

Los efectos negativos anteriores tales como la prolongación del anestro, disminución de la tasa ovulatoria, disminución de la secreción de GnRH y por ende la frecuencia pulsátil de LH; presentan su efecto principalmente a nivel ovario; así como también en el Sistema Nervioso Central que emite información de acuerdo al estado nutricional por medio de las señales neuroendocrinas que controlan la actividad reproductiva (Schillo, 1992).

La influencia de la nutrición también recae en mortalidades embrionarias que son extremadamente sensibles a cambios en el estado nutricional del animal (Robinson, 1990), donde tanto la desnutrición como la sobrealimentación durante las primeras semanas después de la fertilización, debido a un aumento en el metabolismo de progesterona y, en consecuencia, a la degradación del ambiente uterino (Martin, 2005).

Este efecto se observa en ovejas alimentadas con baja energía, las cuales mostraron una disminución en la frecuencia pulsátil de LH (Foster y Olster, 1985), y una disminución en el número de folículos y en la respuesta superovulatoria (O'Callaghan *et al.*, 2000).

Influencia de la energía en la reproducción

Cuando existe un déficit de energía las funciones reproductivas tienen una actividad fisiológica menor comparadas con las funciones básicas como la termorregulación, locomoción, crecimiento, mantenimiento celular y lactación. Por tal motivo, los procesos reproductivos se interrumpen mucho antes de que las funciones vitales se vean comprometidas (Blache, 2003).

Se han realizado numerosas investigaciones tendientes a identificar las condiciones y los mecanismos fisiológicos a través de los cuales la energía influye en la actividad reproductiva (Randel, 1990; Dunn y Moss, 1992; Robinson, 1996; Tanaca *et al.*, 2002) los resultados de algunas de ellas indican:

1. La restricción extrema en el consumo de cualquier nutriente puede afectar la reproducción, es en principio el estado energético del organismo lo que determina la capacidad reproductiva.
2. El estado energético del organismo está determinado por una interacción entre el componente estático representado por las reservas corporales de energía en un momento dado y uno dinámico representado por el ingreso de energía al organismo a partir de la dieta.
3. La relación entre consumo, gasto y reservas corporales de energía, al ser interpretada como una situación de déficit energético puede afectar dependiendo de su intensidad a diferentes procesos reproductivos.
4. La disminución en la frecuencia de la secreción pulsátil de GnRH y por lo tanto de LH, es la vía fundamental por la que la subnutrición y el estado energético inadecuado derivado de ella limiten la actividad reproductiva.

El estatus energético es generalmente considerado como el factor nutricional de mayor importancia que tiene efecto en la actividad reproductiva, observándose cuando el consumo de energía es bajo, disminuye la fertilización y la tasa ovulatoria (Villa-Godoy *et al.*, 1998; Boland *et al.*, 2001).

La energía disponible incluye energía proveniente de la nutrición y también de la energía almacenada en los tejidos corporales, especialmente del tejido adiposo, un sistema de almacenamiento altamente eficiente. La energía

utilizada varía de acuerdo a la edad y estado fisiológico del animal y comprende la energía utilizada para las funciones responsables del mantenimiento de la homeostasis y para las necesidades fisiológicas extras tales como el crecimiento y la reproducción. Los cambios de este requerimiento pueden repercutir su acción en cualquiera de estos tres niveles del eje reproductivo: hipotálamo, hipófisis y gónadas; así como en los mecanismos reguladores de retroalimentación (Cameron, 1996). Tal es el caso del ovario que puede ser menos sensible al estímulo de las gonadotropinas, cuando el animal padece de una pérdida de glucosa excesiva durante el inicio de la lactancia (Chalupa y Ferguson, 1988).

La restricción de energía en el consumo de los rumiantes retrasa la pubertad, alarga los días abiertos, disminuye la actividad reproductiva y baja la habilidad de la hipófisis para responder a la hormona liberadora de gonadotropinas (Day *et al.*, 1986), lo que conlleva a declinar la secreción de LH considerando que dicha hormona es muy importante en la fase final de la maduración de los folículos (Randel, 1990) y para la inducción del estro y la ovulación (Thomas *et al.*, 1997).

El coste energético requerido para el crecimiento folicular, fertilización del ovulo e implantación del embrión es ínfimo comparado con las necesidades de mantenimiento del organismo, por lo que se deduce que el estado energético repercutirá en la concentración de metabolitos y actividad de las hormonas metabólicas y reproductivas (Martínez y Sánchez, 1999).

La dinámica folicular también es afectada por el balance energético, por ello la adición de grasa en la dieta estimula el crecimiento folicular, favorece la

función lútea, incrementa la energía, la concentración de metabolitos y hormonas metabólicas que pueden actuar a nivel hipotálamo-hipófisis-gonadas (De Fries *et al.*, 1998).

Por otra parte, el consumo inadecuado de energía puede prolongar el anestro (James *et al.*, 1988), disminuir la tasa de concepción, gestación y el desarrollo reproductivo después del parto (Randel, 1990), factores que son atribuidos al mal desarrollo de los folículos preovulatorios (Schillo, 1992).

Los cambios corporales se asocian con cambios en la actividad reproductiva pero es imposible que dichos cambios regulen la secreción de GnRH, la cual es regulada por metabolitos específicos y hormonas metabólicas que reflejan el estado nutricional, como es el caso de la glucosa y los ácidos grasos esterificados que pueden controlar la secreción de GnRH (Schillo, 1992).

González-Padilla *et al.* (1975) realizaron trabajos con novillonas demostrando que existen cambios significativos en el peso corporal o en la disponibilidad de alimento que alteran el patrón de secreción de LH.

La condición corporal, usualmente asociada con un balance de energía positivo y ganancia de peso se ha estudiado con objeto de incrementar la tasa ovulatoria y el número de corderos. La importancia relativa de las reservas corporales, la habilidad de oxidación metabólica, el rol de varias hormonas y el mejoramiento de la nutrición son puntos en controversia (Coop, 1996).

El aumento de glucosa en plasma aumenta la tasa ovulatoria en ovejas (Rodríguez-Iglesias *et al.*, 1996). Por ello, una infusión intravenosa de glucosa fue efectiva al incrementar el nivel de insulina dando paso a aumentar el factor de crecimiento parecido a la insulina tipo uno (IGF-I), disminuir la concentración

de progesterona en plasma y restablecer la respuesta de IGF-I a los cambios de progesterona (Kriel *et al.*, 1992).

Al proporcionar soluciones glucogénicas como el propenil glicol se reduce la acumulación de triglicéridos hepáticos hasta en 42%, la evidencia de este experimento sugiere que reducir los ácidos grasos no esterificados es importante para reducir la acumulación de triglicéridos hepáticos (Grummer *et al.*, 1993). Además es efectivo en incrementar los niveles de glucosa e insulina en plasma (Burhans *et al.*, 1997).

Por ello, la suplementación glucogénica antes de empezar la actividad reproductiva es de gran importancia, ya que ayuda a estimular la GnRH a la hipófisis, incrementar los niveles de insulina, glucosa, IGF-1 y algunas proteínas que intervienen en la actividad reproductiva, uno de estos precursores glucogénicos puede ser el glicerol, el cual puede ayudar a modificar la tasa ovulatoria por periodos cortos en ovejas (Grummer *et al.*, 1996)

Energía

La energía es el nutriente más limitante en la alimentación animal; la deficiencia de energía puede deberse a un bajo consumo de alimento o por una concentración baja de energía en el mismo, en relación a los requerimientos de energía por el animal. En general, una ingestión baja de energía se ve asociada con deficiencias de proteína. Los signos de deficiencia varían en función de la severidad de la misma, desde detención del crecimiento, pérdida de peso, disminución de la fertilidad y la producción de lana y ruptura de las fibras, hasta el incremento en la mortalidad de los animales.

El requerimiento de energía para mantenimiento esta determinado por el peso, la edad y el estado fisiológico del animal; así como a factores ambientales (NRC, 1985). Las necesidades energéticas de los animales dependen de situaciones como la raza, el nivel productivo y el clima del lugar donde se encuentre (Chalupa y Ferguson, 1988).

Lípidos

Los lípidos son compuestos orgánicos que son relativamente insolubles en agua, pero relativamente solubles en disolventes inorgánicos (Church *et al.*, 2002), los cuales se pueden clasificar de la siguiente manera:

Lípidos simples: son ésteres de ácidos grasos con varios alcoholes. Las grasas, los aceites y las ceras son lípidos simples. Las grasas y los aceites son ésteres de ácidos con glicerol y las ceras son ésteres de ácidos grasos con alcoholes distintos al glicerol.

Lípidos compuestos. Se trata de esteres de ácidos grasos que contienen sustancias no lipídicas como fósforo, carbohidratos y proteínas, además de un alcohol y un ácido graso. Incluyen fosfolípidos, glucolípidos y lipoproteínas.

Lípidos derivados. Estos incluyen sustancias derivadas por hidrólisis de lípidos simples o compuestos; por ejemplo: ácidos grasos, glicerol y otros alcoholes.

Los constituyentes lipídicos más importantes de la nutrición animal incluyen: ácidos grasos, glicerol, monoglicéridos, diglicéridos, triglicéridos y fosfolípidos (Church y Pond, 1998).

Los triglicéridos están compuestos por tres ácidos grasos unidos por enlace ester con un sólo glicerol. Dado que los hidroxilos polares del glicerol y los carboxilos polares de los ácidos grasos están unidos por enlaces ester, los triglicéridos son moléculas apolares, hidrofóbicas, prácticamente insolubles en agua que tienen dos ventajas significativas sobre polisacáridos tales como el glucógeno y el almidón: los átomos de carbono de los ácidos grasos están más reducidos que los de los azúcares, por lo que la oxidación de los triglicéridos proporciona más del doble de energía, gramo por gramo, que los glúcidos, y puesto que los triglicéridos son hidrofóbicos no están hidratados y por lo tanto el organismo que transporta combustible en forma de grasa no ha de transportar el peso adicional del agua de hidratación asociada con los polisacáridos almacenados (David *et al.*, 2000).

Funciones de los lípidos

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

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

Además, los lípidos tienen una gran presencia en la reproducción, tal es el caso que al suplementar grasa en la dieta incrementa la concentración de progesterona en sangre, probablemente debido a un efecto secundario por la

reducción de la síntesis de prostaglandina que por aumento debido a los precursores derivados del colesterol (Martínez y Sánchez, 1999).

Así como también tienen efecto positivo en el crecimiento folicular, en particular los ácidos grasos poliinsaturados que maximizan el desarrollo folicular ovárico (Thomas *et al.*, 1997), e incrementan el tamaño del folículo preovulatorio que da paso a tener mayor calidad del oocito y del cuerpo lúteo y por consiguiente una mayor tasa de preñez (Boland *et al.*, 2001).

Hidrólisis de los ácidos grasos

Los microorganismos del rumen modifican rápida y ampliamente los lípidos de la dietas durante su permanencia en el mismo, hasta ácidos grasos libres y glicerol u otros compuestos, dependiendo de la naturaleza del lípido consumido y en condiciones típicas muy poca grasa escapa ilesa del rumen. Los ácidos grasos aparecen típicamente en forma esterificada, al menos en las dietas convencionales (Church, 1993).

Los ácidos grasos se metabolizan en mayor grado a nivel ruminal, sin embargo algunos son de sobrepaso. Una alta proporción de ácidos grasos son parcial o completamente hidrogenados y el glicerol es fermentado para formar ácido propiónico que es el ácido graso volátil precursor de la glucosa y por lo tanto estimulante en la secreción de insulina (Funston y Filler, 2002).

Lipólisis

Los lípidos de las plantas esterificados son consumidos e hidrolizados extensivamente por lipasas microbianas, causando la secreción de constituyentes de los ácidos grasos. *Anaerovibrio lipolítica*, es una bacteria ruminal mejor conocida para esta actividad, principalmente para triglicéridos. La lipasa de estos microorganismos es una enzima extracelular compuesta de proteínas, lípidos y ácidos nucleicos que presenta mayor actividad a pH 7.4 con 20-22°C. Esta lipasa hidroliza los acilgliceridos completamente a ácidos grasos libres y glicerol con poca acumulación de mono o digliceridos (Jenkins, 1993).

La lipólisis es una primera etapa obligatoria en la modificación de los lípidos esterificados que aporta la dieta, tras de ella se produce la biohidrogenación. La fracción de microorganismos lipolíticos que realizan la biohidrogenación es menor con dietas ricas en cereales, permitiendo un mayor escape de lípidos intactos (Church, 1993).

Biohidrogenación de los ácidos grasos

La biohidrogenación tiene lugar en el rumen y los microorganismos son los responsables de la misma. Este proceso es el resultado de la adición de ^+H a los ácidos grasos con dobles enlaces. La biohidrogenación de los ácidos grasos insaturados constituye un mecanismo importante a través del cual los microorganismos pueden disponer de ^+H procedente de un ambiente ruminal en vías de reducción. Si la operación se llega a completar, todos los dobles enlaces se convierten en enlaces sencillos y los ácidos grasos quedan saturados (Church, 1993). Mientras menor sea el grado de instauración de un

ácido graso menor será el grado de biohidrogenación en el rumen (Bauman *et al.*, 2003). La biohidrogenación de los ácidos grasos insaturados es sensible al pH ruminal, lo cual puede reducir la lipólisis y el proceso de saturación (Staples y Thatcher, 1999); sin embargo, algunos ácidos grasos insaturados escapan la biohidrogenación en el rumen para una mejor incorporación dentro del tejido adiposo y leche (Funston y Filler, 2002), mientras que al suplementar grasa parcialmente resistente a la bihidrogenación como los ácidos grasos de cadena larga protegidos con jabón de calcio tienden a incrementar la cantidad de ácidos grasos insaturados a nivel duodenal (Mattos *et al.*, 2000).

Los ácidos grasos insaturados tienen periodos relativamente cortos en el rumen porque son hidrogenados rápidamente por los microorganismos. Al parecer, solamente del 1 al 2% del hidrógeno metabólico se utiliza para este propósito. Este paso de biohidrogenación es una reacción de isomeración que presentan los ácidos grasos vegetales que se convierten de *cis*-12 ácidos grasos insaturados a su isomero *trans*-11, el isomero no es funcional a menos que el ácido graso tenga un grupo carboxilo libre, y en el caso de los ácidos grasos poliinsaturados como C18:2 a *cis*-9, *cis*-12 la configuración del ácido graso está presente. El requisito del grupo carboxilo libre establece la lipólisis como requisito previo para la biohidrogenación (Jenkins, 1993).

La biohidrogenación es evitada parcialmente mediante el consumo de lípidos protegidos con una envoltura de caseína mediante técnicas de tratamiento con formaldehído o mediante la combinación de ácidos grasos libres y cationes divalentes para formar jabones y lograr su protección ruminal y evitar la degradación microbiana en el rumen. La grasa también puede ser

adicionada en su forma protegida contenidas en las semillas enteras o bien puede fluir libremente como resultado de un tratamiento o de la incorporación como grasa libre a la ración (Jenkins y Palmquist, 1984).

Síntesis de lípidos en el rumen

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

Los microorganismos del rumen sintetizan una amplia gama de ácidos grasos de cadena impar y de cadena ramificada, con configuración *trans*. Los precursores usados para la síntesis de ácidos grasos incluyen, sustratos de cadena par, impar o ramificada. Los microorganismos del rumen modifican también la longitud de la cadena de los ácidos mediante α -oxidación como β -oxidación.

La síntesis microbiana es mayor cuando la dieta contiene pocos lípidos, y puede aumentar con el consumo de concentrados. Las bacterias y los protozoarios del rumen incorporan fácilmente ácidos grasos de la dieta a los lípidos celulares, y esto inhibe la síntesis del novo. Los microorganismos del rumen no almacenan triglicéridos, y los ácidos grasos presentes son

principalmente fosfolípidos de membranas o ácidos grasos libres (Church, 1993).

Ácidos grasos libres

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

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

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

Digestión de los ácidos grasos en el intestino

En los rumiantes la mayor parte de la grasa llega al intestino en forma de ácidos grasos no esterificados y ligados de forma no iónica en un complejo insoluble a la materia particulada. El pH de la ingesta que fluye al abomaso es muy bajo y se mantiene durante su recorrido a través de la mitad proximal del intestino delgado debido a la limitada actividad tampón de las secreciones pancreáticas que presentan niveles bajos de bicarbonato. Como consecuencia, los ácidos grasos son ionizados con este pH y los jabones de ácidos grasos insolubles en el rumen son solubilizados, aumentando tanto la absorción de los

ácidos grasos como de los minerales. Los ácidos grasos saturados son digeridos en mayor proporción que los ácidos grasos insaturados a nivel intestino. En esencia, los ácidos grasos de cadena larga no abandonan el tracto digestivo antes de llegar al intestino delgado y como consecuencia con la contribución de la síntesis microbiana en el rumen, las cantidades de lípidos que llegan al duodeno suelen superar a la cantidad ingerida. El intestino delgado es responsable de la absorción de todos los lípidos de cadena larga (Church, 1993).

Las diferencias que existen con los no rumiantes es la restricción en la digestión, secreciones del tracto digestivo que influyen en el pH, capacidad tampón, niveles enzimáticos y actividad de las enzimas. El pH bajo en la mitad superior del intestino delgado reduce la solubilidad de los ácidos grasos y de los ácidos biliares (Church, 1993).

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

Metabolismo y transporte de triglicéridos

Los tres sitios principales de síntesis de ácidos grasos y triglicéridos son el hígado, la glándula mamaria y el tejido adiposo. El hígado es el órgano principal de la inter-conversión y el metabolismo de lípidos. Una porción considerable de la energía que se absorbe en el conducto gastrointestinal para la síntesis de lípidos se halla en forma de ácidos grasos volátiles. En rumiantes el acetato es el substrato principal para la síntesis de ácidos grasos (Church y Pond, 1998).

La síntesis de triglicéridos puede ser mediante la vía 2-monoglicerido o α -glicerolfosfato. La vía 2-monoglicerido tiene una mínima importancia en los rumiantes sin embargo, ésta se observa cuando se ingieren lípidos que escapan del rumen y aportan cantidades sustanciales de grasa en forma de glicéridos al intestino delgado (Church, 1993).

El transporte de triglicéridos se efectúa mediante fracciones de lipoproteínas de muy baja densidad en lugar de quilomicrones siendo transportados ambos por la linfa, mientras que el hecho inverso resulta cierto en los no rumiantes (Church, 1993).

Clasificación de las grasas de acuerdo con el efecto nutricional

Las grasas suplementarias para los rumiantes que con mayor frecuencia se utilizan son grasas de origen animal y vegetal. Las cuales contienen ácidos grasos insaturados como el palmitoleico (16:1), oleico (18:1), linoleico (18:2 n-6) y α -linolénico (18:3 n-3). El ácido linoleico el cual es un substrato para la síntesis de prostaglandinas ($\text{PGF}_{2\alpha}$), puede ser desaturado y alargado para

formar ácido araquidónico (C20:4) que es un precursor de las PGF_{2α} (Funston y Filler, 2002). Dentro de las grasas de origen animal se emplean grasas poliinsaturadas (grasas de peces), grasa insaturadas (grasas de aves), moderadamente insaturadas (manteca de cerdo), saturadas (sebo de vacuno) y mezcla de las anteriores. Dentro de las grasa vegetales, se emplean algunos aceites más insaturados como los de girasol, maíz y soya (Byers y Schelling, 1993).

Los ácidos grasos saturados a nivel ruminal son indegradables y son considerados grasas de sobrepaso. Los cambios a nivel ruminal de los ácidos grasos volátiles ocurren en respuesta al incrementar la grasa en la dieta y la proporción de cambios es dependiente del grado de saturación de los ácidos grasos consumidos y de la calidad de la dieta (Williams y Stanko, 1999).

También se ha notado que al suministrar ácidos grasos poliinsaturados se incrementa la producción de propionato a nivel ruminal y disminuye la ración acetato:propionato; mientras que las grasa saturadas y altamente poliinsaturadas tienden a ser de sobrepaso teniendo poco efecto en la fermentación ruminal (Williams y Stanko, 1999).

El inadecuado consumo de energía en la dieta y pobre condición corporal son algunos factores que influyen en la eficiencia reproductiva en los sistemas de producción animal. Evidencias sugieren que la composición de la grasa para ganado, particularmente aceites de plantas poliinsaturados, pueden influir positivamente en el crecimiento folicular ovárico, función lútea y el comportamiento reproductivo postparto, independientemente de los efectos calóricos, síntesis del colesterol dando paso a incrementar la secreción de

esteroides ováricos, modificar las concentraciones de insulina y GH (Williams y Stanko, 1999). La energía proveniente de la suplementación de grasa incrementa la secreción de LH en animales deficientes en energía, así como también el colesterol en el fluido folicular, progesterona en el suero sanguíneo, induce el cuerpo lúteo, el número de folículos medianos y el crecimiento del folículo preovulatorio (Funston y Filler, 2002).

Grasas inertes en el rumen: Este tipo de grasa fue designado específicamente para aquellas que tienen poco o nulo efecto, en la digestibilidad del alimento, éstas pueden ser grasas saturadas o grasas hidrogenadas.

Grasas activas en el rumen: Estas grasas tienen un potencial para intervenir con la fermentación microbiana en el rumen y reducir la digestibilidad del alimento en diferentes grados. Estas grasas incluyen grasas de origen animal, aceites de plantas, semillas oleaginosas y subproductos de grasas. Están expuestas a la biohidrogenación por los microorganismos ruminales y generalmente tienen poco impacto en modificar los perfiles de ácidos grasos en la leche.

Grasas protegidas: son aquellas fuentes de grasas que resisten la biohidrogenación por los microorganismos ruminales. Muchas de las grasas están compuestas de ácidos grasos insaturados protegidas por una capsula o tratadas con formaldehído, combinación con minerales para formar jabones de calcio, cristalinización de la grasa, combinación con transportadores adsorbentes como bentonita o vermiculita y protección natural como es el caso

de las semillas de oleaginosas que pueden ofrecer protección natural para no ser atacadas por los microorganismos del rumen (Jenkins y Lundy, 1987).

Glicerol

El glicerol es el componente alcohólico de todos los triglicéridos comunes en tejidos animales y vegetales y es un componente de los fosfátidos: lecitina, cefálica y esfingomielina (Church y Pond, 1998). En su estructura se puede distinguir un grupo OH secundario y dos primarios, donde el carbono central es simétrico, y consecuentemente no pueden diferenciarse los OH correspondientes al carbono "1" y al carbono "3", porque son intercambiables (Jenkins y Palmquist, 1984).

Las concentraciones de glicerol en plasma nunca alcanzan valores altos, porque el glicerol es rápidamente metabolizado por hígado y corteza renal, de hecho, la hepatectomianefrectomia en animales en experimentación produce un rápido e intenso incremento en la concentración sanguínea del glicerol. Puesto que el glicerol se transporta en el torrente sanguíneo tal cual en solución se metaboliza rápidamente, por lo tanto no se tiene una estimación confiable de la velocidad de recambio de este metabolito, por lo que se desconoce la aportación de dicho sustrato en la homeostasis total de la glucosa; no obstante, ciertas aproximaciones, indican que cuantitativamente puede ser un sustrato importante, comparable a la alanina. En cuanto entra el glicerol a la célula se fosforila por acción de la enzima citosólica glicerolquinasa (Herrera, 1986).

El glicerol es un precursor gluconeogénico que se ha usado desde hace varios años para la prevención de cetosis después del parto; además disminuye

el desorden de los metabolitos e incrementa la producción de leche (Pickett et al., 2003). Lo cual se debe a que la glucosa es el nutriente más limitante cuando existe balance energético negativo. La glucosa debe ser sintetizada por gluconeogénesis hepática a partir de precursores como el propionato, que puede contribuir en la formación de glucosa en un 30 ó 50 %, lactato en 10 %, aminoácidos en 9 %, y el glicerol en un 5% y que puede llegar hasta un 23% en caso de ayuno (Jenkins y Palmquist, 1984).

La administración de propenil glicol a vacas después del parto incrementa la concentración de glucosa e insulina y disminuye la concentración de ácidos grasos no esterificados en plasma y la acumulación de triglicéridos en el hígado (Pickett et al., 2003). Además, aumenta las concentraciones de propionato en el rumen, las catecolaminas y glucocorticoides al parto (Vaughn et al., 1993).

En animales bien alimentados el glicerol, suministra cerca del 5% de los substratos para la gluconeogénesis, pero en animales en ayuno prolongado representa entre el 20 y 30% (Galvis y Correa, 2002).

Técnica de fermentación de gas

El desempeño productivo de los rumiantes está en función del valor nutricional de la dieta que consumen, lo cual se limita principalmente por el bajo consumo voluntario y la baja digestibilidad de los alimentos. Expresiones cuantitativas de la cinética de digestión son necesarias para estimar de forma más precisa la cantidad de nutrientes digeridos desde los alimentos para los rumiantes (López et al., 1998).

Las características de fermentación de los alimentos en el rumen pueden ser estudiadas por métodos *in vivo*, *in situ* e *in vitro*. Los estudios *in vivo* de alimentos sólo pueden ser evaluados en raciones totales y al hecho de que tales estudios requieren considerables recursos y son difíciles de estandarizar, en los últimos años varias técnicas *in situ* e *in vitro* han sido desarrolladas.

La técnica de producción de gas es un método *in vitro* que permite determinar la extensión y la cinética de fermentación del alimento a través del volumen de gas producido durante el proceso fermentativo (Theodorou *et al.*, 1994). Una de las ventajas de este procedimiento es que el curso de la fermentación y la función de los componentes solubles del sustrato puede ser cuantificados (Pell *et al.*, 1997). Por otra parte, un problema inherente a los métodos *in situ* e *in vitro* que se han tratado de solucionar a través de la técnica de producción de gas es el estudio de las fases tempranas de la fermentación, ya que los procedimientos gravimétricos no son lo suficientemente sensibles para medir los pequeños cambios que ocurren en el peso del sustrato durante las primeras horas de fermentación (Rosero, 2002).

La energía para el crecimiento microbiano es derivada de la fermentación de carbohidratos, principalmente almidón y celulosa, cuya digestión anaerobia produce ácidos grasos volátiles, succinato, formato, lactato, etanol, dióxido de carbono, metano, y trazas de hidrógeno; sin embargo, ellos también aportan esqueletos de carbonos esenciales para la síntesis de biomasa microbiana (Schofield *et al.*, 1994).

La técnica de producción de gas al igual que otros procedimientos de digestibilidad usan sustratos molidos, medio anaeróbico, temperatura de 39°C e

inóculo ruminal (Williams 2000, citado por Posada y Noguera, 2005). El contenido y la naturaleza de varios constituyentes del alimento y por consiguiente, la cinética de fermentación, pueden ser influidos por la temperatura y el proceso de secado del sustrato.

La técnica de producción de gas *in Vitro* fue desarrollada para predecir la fermentación de los alimentos de los rumiantes. Los alimentos son incubados en el fluido ruminal con sustancia buffer, como un indicador indirecto en la cinética de fermentación. Los fragmentos degradados se fermentan para producir gas y ácidos o incorporados a la biomasa microbiana (Rymer *et al.*, 2005).

Un menor tamaño de partícula aumenta el área de superficie para la degradación microbiana. Para el análisis de producción de gas, la mayoría de los autores muelen los sustratos a través de una malla de 1 mm (Williams 2000, citado por Posada y Noguera, 2005). La cantidad de material requerido para evaluar la cinética de fermentación varía desde 0.1 a 1 g, con un aumento en el tamaño de la muestra se produce una disminución en la producción de gas por cada gramo de MS, debido a la baja proporción de microorganismos en relación al sustrato o al agotamiento del tampón (Getachew *et al.*, 1997, citados por Barrios *et al.*, 1998).

En los sistemas automatizados que miden la producción de gas a un volumen constante, la presión se acumula en una botella, la cual es medida a diferentes tiempos para producir un perfil de producción de gas, además producir suficiente presión alta que afecta la evolución de gas en el medio. Otras medidas para la producción de gas pueden ser por medio de

transductores de presión o sensores hasta de forma manual, donde la presión se va midiendo conforme aumenta.

La cantidad de sustrato que afecta el volumen de gas, pero no la tasa de producción de gas, proporciona suficiente solución buffer en el medio. Los sistemas que usan cantidades pequeñas de sustrato están propensos al error experimental en el peso de la muestra. El inóculo es la fuente de variación más grande en la obtención del perfil de producción de gas, porque depende del fluido ruminal que es muy variable, las dietas de los donadores deben ser las mismas para que no afecten la actividad microbiana y alteren la proporción y magnitud de la fermentación y la especie animal (Rymer *et al.*, 2005).

Theodorou *et al.* (1994) observaron que al aumentar la cantidad de sustrato incrementaba de manera lineal el volumen total de gas, pero la tasa de producción de gas no fue afectada.

Varios factores influyen en la producción de gas como la actividad microbiana que puede ser afectada por la frecuencia de colección, la dilución final con el buffer, la especie animal y el método para preparar el inóculo (Ives *et al.*, 2005).

CAPÍTULO III

LITERATURA CITADA

- Allrich, R. D. 1994. Symposium: Estrus, new devices and monitoring. *Journal of Dairy Science* 77: 2738-2744.
- Baird, D. T., B. K. Campbell, G. E. Mann, and A. S. McNeilly. 1991. Inhibin and estradiol in the control of FSH secretion in the sheep. *Journal of Reproduction and Fertility* 43: 125-138.
- Baird, D. T., I. Swanston, and R. J. Scaramuzzi. 1976. Pulsatile release of LH and secretion of ovarian steroids in sheep during the luteal phase of the estrous cycle. *Journal of Endocrinology* 98: 1490-1496.
- Barrios, U. A., M. Fondevila, R. González M. y C. Castrillo. 1998. Fermentación *in Vitro* de forrajes lignocelulósicos suplementados con distintos tipos y niveles de carbohidratos. Facultad de Agronomía, Universidad de Zulia. *Archivo Latinoamericanos Production Animal* 5(Supl. 1): 199-201.
- Bartlewski, P. M., A. P. Beard, and N. C. Rawlings. 1999. An ultrasonographic study of luteal function in breeds of sheep with different ovulation rates. *Journal of Theriogenology* 52: 115-130.
- Bartlewski, P. M., A. P. Beard, and N. C. Rawlings. 2000. An ultrasound-aided study of temporal relationships between the patterns of LH/FSH secretion, development of ovulatory-sized antral follicles and formation of corpora lutea in ewes. *Journal of Theriogenology* 54: 229-245.
- Bauman, D. E., J. W. Perfield II., M. J. Veth, and A. L. Lock. 2003. New perspectives on lipid digestion and metabolism in ruminants. *Proceeding Cornell Nutrient Conf.* pp: 175-189.

- Bister, J. L., B. Noel, B. Perrad, S. N. Mandiki, J. Mbayahaga, and R. Paquay. 1999. Control the ovarian follicle activity in the ewe. *Domestic Animal Endocrinology* 17: 315-328.
- Blache, D. 2003. Balance de energía y reproducción en rumiantes: procesos endocrinos y neuroendocrinos. *In: Memorias de Fisiología de la Reproducción en Rumiantes*. Colegio de Posgraduados, Montecillo, Estado de México, México. pp: 151-169.
- Boland, M. P., P. Lonergan, and D. O'Callaghan. 2001. Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, and oocyte and embryo development. *Journal of Theriogenology* 55: 1323-1340.
- Bunge, R. 1993. Performance of hair breed and prolific wool breeds of sheep in southern illions: Effect of breed of service sire on lamb production of Suffolk and Targhee ewes. *Journal of Animal Science* 71: 321-325.
- Burhans, W. S., E. A. Rathmacher, and A. W. Bell. 1997. Glucogenic supplementation does not reduce body tissue protein degradation in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science* 80: 167 (Abstr).
- Byers, F. M. y G. Schelling T. 1993. Los lípidos en la nutrición de los ruminates. *In: El Rumiante: Fisiología Digestiva y Nutrición*. Church, C. Editorial. Acribia Zaragoza, España. pp: 339-356.
- Cahill, L. P., and P. Mauleon. 1980. Influences of season, cycle and breed on follicular growth rates in sheep. *Journal of Reproduction and Fertility* 58: 321-328.

- Cahill, L. P., and P. Mauleon. 1981. A study of the population of primordial and small follicles in the sheep. *Journal of Reproduction and Fertility* 61: 201-206.
- Cameron, J. L. 1996. Regulation of reproductive hormone secretion in primates by short-term changes in nutrition. *Reviews of Reproduction* 1: 117-126.
- Chalupa, W., and J. D. Fergunson. 1988. Importancia de la nutrición en la reproducción de la vaca alta productora. *In: Memorias del Seminario Internacional: La Importancia de la Nutrición en la Reproducción de Bovinos.* pp: 41-68.
- Church, D. C. 1993. *El Rumiante: Fisiología Digestiva y Nutrición.* Ed. Acribia. Zaragoza, España. 641 p.
- Church, D. C., and W. G. Pond. 1998. *Basic Animal Nutrition and Feeding.* Third Edition. USA. John Wiley & Sons. 472 p.
- Church, D. C., W. Pond G. y K. Pond R. 2002. *Fundamentos de Nutrición y Alimentación de Animales.* Segunda edición. Editorial. Limusa. S.A. de C.V. México, D. F. 635 p.
- Coop, I. E. 1996. Effect of flushing on reproductive performance of ewes. *Journal of Agriculture Science* 67: 305-323.
- David, L. N., M. Michael C. y M. Claudia C. 2000. *Principios de Bioquímica.* Editorial. Omega. Barcelona, España. 366 p.

- Day, M. L., K. Imakawa, D. D. Zalesky, R. J. Kittok, and J. E. Kinder. 1986. Effects of restriction of dietary energy intake during the prepubertal period on secretion of luteinizing hormone and responsiveness of the pituitary to luteinizing hormone-releasing hormone in heifers. *Journal of Animal Science* 62: 1641-1653.
- De Fries, C. A., D. A. Neuendorff, and R. D. Randel. 1998. Fat supplementation influences postpartum reproductive performance in Brahman cow. *Journal of Animal Science* 76: 846-870.
- Downing, J. A., and R. J. Scaramuzzi. 1991. Nutrient effects on ovulation rate, ovarian function and the secretion of gonadotrophic and metabolic hormones in sheep. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* 43: 209-227.
- Driancourt, M. A. 2001. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implication for manipulation of reproduction. *Journal of Theriogenology* 55: 1211-1239.
- Dunn, T. G., and G. E. Moos. 1992. Effects of nutrient deficiencies and excesses on reproductive efficiency of livestock. *Journal of Animal Science* 70: 1580-1593.
- Edey, T. N. 1968. Body weight and ovulation rate in sheep. *Journal of Animal Production* 7: 188-199.
- Evans, A. C. O., P. Duffy, N. Hynes, and M. P. Boland. 2000. Wave of follicle development during the estrous cycle in sheep. *Journal of Theriogenology* 53: 699-715.

- Fernández, T. A. 2003. Dinámica folicular: funcionamiento y regulación. Departamento de Reproducción Animal, Facultad de Montevideo, Uruguay. pp:1-2.
- Foster, D. L., and D. H. Olster. 1985. Effect of restricted nutrition on puberty in the lamb: patterns of tonic luteinizing hormone (LH) secretion and competency of the LH surge system. *Journal of Endocrinology* 116: 375-382.
- Funston, R., and S. Filler. 2002. Effects of fat supplementation on reproduction in beef cattle. *In: The Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle Workshop. Proceeding.* Manhattan, Kansas. pp: 1-7.
- Galvis, G. R. D. y C. H. Correa J. 2002. Interacciones entre el metabolismo y la reproducción en la vaca lechera: ¿es la actividad gluconeogenica el eslabón perdido?. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 15(1): 36-50.
- Ginther, O. J. 2000. Selection of the dominant follicle in cattle and horses. *Animal Reproduction Science* 60: 61-69.
- Gong, J. G., D. G. Armstrong, C. O. Baxter, P. C. Hogg, Garnsworthy, and R. Webb. 2002. The effect of increased dietary intake on superovulatory response to FSH in heifers. *Journal of Theriogenology* 57: 1591-1602.
- Gonzalez, A., B. D. Murphy, C. W. Foote, and E. Ortega. 1992. Circannual estrous variations and ovulation rate in Pelibuey ewes. *Small Ruminant Research* 8: 225-232.

- González-Padilla, E., J. N. Witban, and G. D. Niswender. 1975. Puberty in beef heifers. I. The interrelationship between pituitary, hypothalamic and ovarian hormones. *Journal of Animal Science* 40: 1091-1104.
- Goodman, R. L., and F. J. Karsch. 1981. A critique of the evidence on the importance of steroid feedback to seasonal changes in gonadotrophin secretion. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* 30: 1-13.
- Goodman, R. L. 1994. Neuroendocrine control of the ovine estrous cycle. *In: The Physiology of Reproduction*. pp: 659-709.
- Goodman, R. L., E. L. Bittman, D. L. Foster, and F. J. Karsch. 1982. Alteration in the luteinizing hormone pulse frequency underlie the seasonal variation in estradiol negative feedback in the ewe. *Biology of Reproduction* 27: 580-589.
- Grummer, R. R., A. V. Studer, and J. B. Sandra. 1993. Effect of prepartum propylene glycol administration in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science* 76: 2931-2939.
- Grummer, R. R., O. C. Jens, E. R. Flemming, and J. B. Sandra. 1996. Effect of method of delivery of propylene glycol on plasma metabolites of feed-restricted cattle. *Journal of Dairy Science* 80: 563-568.
- Guigli, I., Russo A. y A. Agüero. 2006. Consideraciones sobre la dinámica ovárica en equino, bovino y camélidos sudamericanos. Área de Teriogenología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires. 22 p.

- Gutiérrez, A. C. 2001. Influencia de la nutrición en la reproducción. *In: Memorias del Seminario de Fisiología de la Reproducción en Rumiantes*. pp: 155-166.
- Hafez, E. S. E. y B. Hafez. 2004. Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. Séptima edición. Mc-Graw-Hill Interamericana. México, D. F. 519 p.
- Hafez, E. S. E. 1952. Studies on the breeding season and reproduction of the ewe. *Journal of Agriculture Science* 42: 189-265.
- Hay, M. E., and R. M. Moor. 1975. Functional and structural relationships in the Graafian follicle population of the sheep ovary. *Journal of Reproduction and Fertility* 45: 583-593.
- Heredia, A., M. A. Velásquez, F. J. Quintal, R. Mex J. y G. Aragon A. 1991. Efecto de dos fuentes de alimentación sobre la estacionalidad reproductiva de la oveja Pelibuey. *In: Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria*. Ciudad Victoria Tamaulipas. 115 p.
- Herrera, H. 1986. Bioquímica. Editorial. Interamericana. Barcelona, España. 352p.
- Imakawa, K., R. J. Kittok, J. E. Kinder, B. D. Schanbacker, and D. D. Zalesky. 1986. Endocrine changes during restoration of oestrus cycles following induction of anestrus by restricted nutrient intake in beef heifers. *Journal of Animal Science* 63: 565-571.
- Imakawa, K., R. J. Kittok, and J. E. Kinder. 1984. Luteinizing hormone secretion after withdrawal of exogenous progestogen in heifers fed three levels of dietary energy. *Journal of Animal Science* 58: 151-162.

- Imakawa, K., R. J. Kittok, and J. E. Kinder. 1983. The influence of dietary energy intake on progesterone concentration in beef heifers. *Journal of Animal Science* 56: 454-461.
- Ives, C. S. B., L. S. Sergio, F. Cabral, P. G. Sarita, L. Helder, M. S. S. V. Dorinha, and L. A. Adibe. 2005. Influence of inoculum source in a gas production method. *Animal Feed Science and Technology* 123-124: 95-105.
- James, E. K., S. Mark. R. y I. Kazuhico. 1988. Influencia de la nutrición sobre la endocrinología reproductiva de la vaca productora de carne. *In: Memorias del Seminario Internacional: La Importancia de la Nutrición en la Reproducción de Bovinos*. pp: 7-23.
- Jenkins, T., and Lundy F. 1987. Feeding various fat sources to lactating dairy cows and their effects on milk quality. Department of Animal & Veterinary Science. Clemson University. Consultado *In: <http://www.das.psu.edu/dairynutrition/documents/jenkinspaper.pdf>*. 5 noviembre 2006.
- Jenkins, T. 1993. Coloric versus noncaloric considerations when feeding fat to dairy cattle. Department of Animal & Veterinary Science. Clemson University. Consultado en <http://www.asas.org/midwest/2003/03mabs.pdf> 5 noviembre 2006.
- Jenkins, T. C. y D. L. Palmquist. 1984. Effect of fatty acids or calcium soaps on rumen and total nutrient digestibility of dairy rations. *Journal of Dairy Science* 67: 978-986.

- Juengel, J. L., H. R. Sawyer, P. R. Smith, L. D. Wuirke, D. A. Heath, S. Lun, J. Wakefield, and K. P. Mc Natty. 2002. Origins of follicular cell and ontogeny of steroids in ovine fetal ovaries. *Molecular and Cellular Endocrinology* 191:1-10.
- Karsch, F. J., E. L. Bittman, D. L. Foster, R. L. Goodman, S. J. Legan, and J. E. Robinson. 1984. Neuroendocrine basis of seasonal reproduction. *Journal of Animal Science* 40: 1852-1863.
- Karsch, F. J., S. J. Legan, K. D. Ryan, and D. L. Foster. 1980. Importance of estradiol and progesterone in regulating LH secretion and estrous behavior during the sheep estrous cycle. *Biology of Reproduction* 23: 404-413.
- Kriel, G. B., M. J. Bryant, and M. A. Lomax. 1992. Effect of dietary protein intake and intravenous glucose infusion on plasma concentration of insuline-like growth factor-I in lambs. *Journal of Endocrinology* 132: 195-199.
- López, S., M. D. Carro, J. S. González, and F. J. Ovejero. 1998. Comparison of different in vitro and in situ methods to estimate the extent and rate of degradation of hays in the rumen. *Animal Feed Science and Technology* 73: 99-113.
- Martin, M. B. 2005. Métodos limpios, verdes y éticos para aumentar la eficiencia reproductiva en pequeños rumiantes. *In: Memorias de Reproducción en Rumiantes*. Colegio de Postgraduados, Montecillos, Estado de México. 1-15 p.

- Martínez, M. L. A. y C. F. Sánchez. J. 1999. Alimentación y reproducción en vacas lecheras. Mundo Ganadero. El mensual Mundo Ganadero. Editorial. Eumedia, S.A. en Madrid, España. 5 p.
- Martínez, R. R. R., Q. L. Zarco A., C. Cruz L. y G. Rubio I. 1995. La estacionalidad de la actividad ovárica en la oveja Pelibuey es independiente de variaciones en el peso o condición corporal de los animales. *In*: VIII Congreso Nacional de Producción Ovina. Chapingo México. pp: 131-134.
- Mattos, R., C. R. Staples, and W. W. Thatcher. 2000. Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminants. *Journal of Reproduction and Fertility* 5: 38-45.
- Nalbandov, A. V. 1969. Fisiología de la Reproducción. Editorial. Acribia. Zaragoza, España. 303 p.
- Nuncio-Ochoa, G. J., T. Nahed B., H. Díaz F., Escobedo A. y B. Salvatierra. 2001. Caracterización de los sistemas de producción ovina en el estado de Tabasco. *Agrociencia* 35:469-477.
- NRC. 1985. Nutrient Requirements of Sheep. National Academy of Science. Washington. D. C. 99 p.
- O`Callaghan, D., and M. P. Boland. 1999. Nutritional effects on ovulation, embryo development and the establishment of pregnancy in ruminants. *Journal of Animal Science* 68: 299-314.

- O'Callaghan, D. O., H. Yaakub, P. Hyttel, L. J. Spicer, and M. P. Boland. 2000. Effect of nutrition and superovulation on oocyte morphology, follicular fluid composition and systemic hormone concentrations in ewes. *Journal of Reproduction and Fertility* 118: 303-313.
- Ortiz, O. J., J. Pacheco R. y C. Ojeda M. 2000. Crecimiento corporal de machos y hembras Pelibuey a través de medidas zoométricas. *In: Memorias de Ciclo de Conferencias Sobre Evaluación, Comercialización y Mejoramiento Genético*. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. 76 p.
- Pell, A. N., P. H. Doane, and P. Schofield. 1997. In vitro digestibility and gas production. *In: Simposio sobre Tópicos Especiais em Zootecnia*, Lavras, MG, pp: 109 - 132.
- Pickett, M. M., M. S. Piepenbrink, and T. R. Overton. 2003. Effects of propylene glycol or fat drench on plasma metabolites, liver composition, and production of dairy cows during the periparturient period. *Journal of Dairy Science* 86: 2113-2121.
- Porras, A. A., Q. Zarco L. A. y M. Valencia J. 2003. Estacionalidad reproductiva en ovejas. *Ciencia Veterinaria* 33 p.
- Posada, S. L. y R. Noguera R. 2005. Técnica *in vitro* de producción de gases: Una herramienta para la evaluación de alimentos para rumiantes. Universidad de Antioquia, Facultad de Ciencias Agrarias, Medellín, Colombia. 17 (4).
- Randel, R. D. 1990. Nutrition and postpartum rebreeding in cattle. *Journal of Animal Science* 68: 853-862.

- Rawlings, N. C., and S. J. Cook. 1993. LH secretion around the time of the preovulatory gonadotrophin surge in the ewe. *Animal Reproduction Science* 30: 289-99.
- Rhind, I. D., R. J. Leslie, R. J. Gunn, and J. M. Doney. 1985. Plasma FSH, LH, Prolactin and Progesterone profiles of Cheviot ewes with different levels of intake before and after mating, and associated effects on reproductive performance. *Animal Reproduction Science* 8: 301-313.
- Rhind, S. M., and A. S. Mcneilly. 1986. Follicle population ovulation rates and plasma profiles of LH, FSH and Prolactin in Scottish Blackface ewes in high and low levels of body condition. *Animal Reproduction Science* 10: 105-115.
- Robertson, N., P. Groome, M. E. Jones, and E. R. Simpson. 2000. The roles of activins, inhibins and estrogen in early committed follicles. *Molecular and Cellular Endocrinology* 163: 81-87.
- Robinson, J. J. 1990. Nutrition in the reproduction of farm animals. *Nutrition Research* 3: 253-261.
- Robinson, J. J. 1996. Nutrition and reproduction. *Animal Reproduction Science* 42: 25-34
- Roche, J. F. 1996. Control and regulation of folliculogenesis – a symposium in perspective. *Journal of Reproduction and Fertility* 1: 19-27.
- Rodríguez-Iglesias, R. M., N. H. Ciccioli, H Irazoqui, and C. Giglioli. 1996. Ovulation rate in ewes after single oral glucogenic dosage during a ram-induced follicular phase. *Animal Reproduction Science* 44: 211-221.

- Rosero, J. R. 2002. Estudio químico, "*in situ*", "*in vitro*" e microscópico de paredes celulares de cinco genótipos de sorgo colhidos en tres épocas de corte. *Ph. D. Thesis*. Belo Horizonte: Escuela de Veterinaria de la Universidad Federal de Minas Gerais. 148 p.
- Rubianes, E. 2000. Avances en el conocimiento de la fisiología ovárica de los pequeños rumiantes y su aplicación para el manejo reproductivo. *In: Actas de Fisiología*. Departamento de fisiología, Facultad de Veterinaria y departamento de Producción Animal y Pasturas, Facultad de Agronomía, Universidad de la Republica, Montevideo, Uruguay. pp: 93-103.
- Rymer, C., J. A. Huntington, B. A. Williams, and D. I. Givns. 2005. In vitro cumulative gas production techniques: History, methodological considerations and challenges. *Animal Feed Science and Technology* 123-124: 9-30.
- Scaramuzzi, R. J., and D. T. Baird. 1977. Pulsatile release of luteinizing hormone and the secretion the ovarian steroids in sheep during anestrus. *Journal of Endocrinology* 101: 1801-1806.
- Schillo, K. K. 1992. Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. *Journal of Animal Science* 70: 1271-1282.
- Schofield, P., R. E. Pitt, and A. N. Pell. 1994. Kinetics of fiber digestion from in vitro gas production. *Journal of Animal Science* 72: 2980-2991.

- Shelton, M. 1975. Posibilidad de desarrollo de una empresa ovina de acuerdo a la región. *In: Primera Reunión Internacional sobre Producción Ovina.* Instituto Nacional de Ovinos y Lanas-SARH. San Luis Potosí, S.L.P., Méx. pp: 8-16.
- Smith, J. F. 1988. Influence of nutrition on ovulation rate in the ewe. *Australian Journal of Biology Research* 41: 27-34.
- Staples, C. R., and W. W. Thatcher. 1999. Nutrient influences on reproduction of dairy cows. *In: Animal Sciences Dept, Universidad de Florida.* Pp. 21-35.
- Tanaka, T. N., Y. Acaboshi, H. Inoue, Kamomae, and Y. Kaneda. 2002. Fasting-Índiced supresion of pulsatile luteinizing hormone secretion is relate to body energy status in ovariectomized goats. *Animal Reproduction Science* 72: 185-196.
- Theodorou, M. K., B. A. Williams, M. S. Dhanoa, A. B. McAllan, and J. France. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology* 48: 185–197.
- Thomas, M. G., B. Bao, and G. L. Williams. 1997. Dietary fats varying in their fatty acid composition differentially influence follicular growth in cows fed isoenergetic diets. *Journal of Animal Science* 75: 2512-2519.
- Turnbull, K. E., A. W. Breden, and P. E. Mettner. 1977. The pattern of follicular growth and atresia in the ovine ovary. *Australian of Journal Biology Science* 30: 229-241.
- Turner, H. N. 1970. Some aspects of sheep breeding in the tropics. *Australian Journal of Agriculture* 22: 31-37.

- Valencia, Z. M., M. Heredia A. y E. González P. 1981. Estacionalidad reproductiva en hembras Pelibuey. *In*: Memorias de la VIII Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal. Santo Domingo, Republica Dominicana. 48 p.
- Van Cleeff, J., G. E. Dahl, N. P. Evans, F. J. Karsch, and V. Padmanabhan. 1995. Existence of a GnRH-independent component of episodic FSH release in the natural luteal phase ewe. *Journal of Reproduction and Fertility* 89: 643-53.
- Vaughn, A. S., Ric R. G., and Sandra J. B. 1993. Effect of prepartum propylene glycol administration on periparturient fatty liver in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 76: 2931-2939.
- Villa-Godoy, A., T. L. Hughes, R. S. Emery, L. T. Chapin, and R. L. Fogwell. 1998. Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 71: 1063-1072.
- Vincent, J. N., McQuown, and D. R. Notter. 2000. Duration of the seasonal anestrus in sheep selected for fertility in a fall-lambing system. *Journal of Animal Science* 78: 1149-1154.
- Viñoles, C., M. Forsberg, G. Banchero, and E. Rubianes. 2001. Effect of long term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Journal of Theriogenology* 42: 381-342.
- Viñoles, C., M. Forsberg, G. Banchero, and E. Rubianes. 2002. Ovarian follicular dynamics and endocrine profiles in Polwarth ewes with high and low body condition. *Journal of Animal Science* 74: 539-545.

- Webb, R., P. C. Garnsworthy, J. G. Gong, and D. G. Armstrong. 2004. Control of follicular growth: Local interactions and nutritional influences. *Journal of Animal Science Supplement* 82: E63-E74.
- Williams, G. L., and R. L. Stanko. 1999. Dietary fats as reproductive nutraceuticals in beef cattle. *In: American Society of Animal Science Proceeding*. pp: 1-12.

CAPÍTULO IV

**PARÁMETROS REPRODUCTIVOS EN OVEJAS DE PELO DURANTE LA
ÉPOCA DE ANESTRO ESTACIONAL SUPLEMENTADAS CON GLICEROL**

**REPRODUCTIVE PARAMETERS IN HAIRY EWES DURING THE
FOTOPERIOD OF SEASONAL ANESTRUS SUPPLEMENTED WITH
GLYCEROL**

Román Méndez Castillo¹, Carlos Sánchez del Real^{1*}, Jaime Gallegos Sánchez²

José Artemio Cadena Meneses¹, Luis Alberto Romero Miranda¹, Carlos

Guillermo Germán Alarcon^{1**} y Carlos G. Gutiérrez Aguilar³

RESUMEN

El glicerol es un precursor gluconeogénico que ayuda a mejorar los parámetros reproductivos. El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de la ingestión de glicerol vía dieta en la época de anestro estacional en la manifestación del estro (ME), tasa ovulatoria (TO), retorno al estro (RE), porcentaje de gestación (PG), y prolificidad (P) en ovejas de pelo. Se utilizaron 39 ovejas multíparas, las cuales fueron asignadas al azar a los tratamientos 0, 100, 200 y 300 mL de glicerol por animal⁻¹ día⁻¹. Ocho días previos a la ME empezó la suplementación. La dieta se proporcionó a libre acceso. Las ovejas se

¹ Programa de Maestría en Producción Animal, Departamento de Zootecnia**, Universidad Autónoma Chapingo. Km 38.5. Carretera México-Texcoco. Chapingo, México. C.P. 56230. Tel: 5959521684. carloss561@aol.com*

² Colegio de Postgraduados, Área de Ganadería. Km. 35.5 Carretera México-Texcoco. Montecillo, Estado de México, México. C.P. 56230. Tel: 595 202 00 ext. 1723. gallegos@colpos.colpos.mx.

³ Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México

Artículo para ser sometido a la Revista Técnica Pecuaria en México.

sincronizaron para la ME, con esponjas intravaginales impregnadas con AFG, el día 10 se aplicó prostaglandina y el día 12 se removieron las esponjas y doce horas después de removidas se detectó la ME con sementales. La detección de la ME se realizó cada cuatro horas por dos días. Doce horas después del estro se inseminaron las ovejas. A los 10 días del estro se evaluó la TO por medio de ultrasonografía, a los 16 días se evaluó el RE y a los 45 días se evaluó el PG por ultrasonografía y al parto se evaluó la P. Los datos se analizaron por medio de la prueba de Ji-cuadrada. Las ovejas no presentaron diferencias para ME, RE, PG y P por efecto de la dosis de glicerol; pero sí para la variable TO al contrastar el tratamiento 0 con 100, 200, 300 mL de glicerol animal⁻¹ día⁻¹ y específicamente al contrastar el tratamiento 0 con 100 mL glicerol animal⁻¹ día⁻¹. En conclusión, el glicerol afecta la TO con la dosis de 100 mL glicerol animal⁻¹ día⁻¹.

Palabras clave: Glucogénico, reproducción, Pelibuey, flushing

ABSTRACT

Glycerol is a gluconeogenic precursor that helps to improve reproductive parameters. The objective of the study was to evaluate the effect of glycerol ingestion via diet in the period of seasonal anestrus in the estrus manifestation (EM), ovulatory rate (OR), estrus return (ER), gestation percentage (GP), and prolificacy (P) in hairy ewes. Thirty-nine multiparous ewes were utilized, these were randomly assigned to the treatments 0, 100, 200 and 300 mL of glycerol per animal⁻¹ day⁻¹. Supplementation started eight days previous to EM. Diet was provided under free access. Ewes were synchronized for the EM with intravaginal sponges impregnated with flourogestone acetate (FGA), on the 10th day after EM prostaglandine was applied. On the 12th day sponge was removed, and EM was detected by rams. Detection was carried out every 4 hours for two days. Twelve hours after estrus, sheep were inseminated. Ten days after the estrus OR was evaluated by ultrasonography, at the 16th day ER was evaluated and on the 45th day GP was evaluated by ultrasonography and at birth P was evaluated. Data were analyzed by means of the chi-square test. Ewes did not show differences for EM, ER, GP and by effect of the glycerol dosages; but they did for the OR variable when contrasting treatment 0 with 100, 200, 300 mL glycerol per animal⁻¹ day⁻¹. In conclusion, the glycerol affects OR with the dosages of 100 mL glycerol per animal⁻¹ day⁻¹.

Key words: Gluconeogenic, reproduction, Pelibuey, flushing

INTRODUCCIÓN

Los ovinos de pelo en México son relevantes por la adaptación a las condiciones ambientales del trópico y a la eficiencia reproductiva que presentan (1).

El éxito de una explotación ovina depende, entre otros factores, de obtener una buena respuesta reproductiva durante la época de anestro estacional, uno de ellos es el número de corderos/hembra/año, este parámetro es conocido como prolificidad, el cual a su vez está influido por la tasa ovulatoria (2).

Para incrementar la prolificidad se ha buscado aumentar la tasa ovulatoria por medio de tratamientos hormonales, programas de mejoramiento genético y estrategias nutricionales. Dentro de estas últimas destaca la estrategia de mejorar el aporte energético a la borrega previa al empadre, práctica conocida como *flushing*.

Para aumentar el aporte energético se han usado polisacáridos y lípidos, entre estos últimos el uso de los triglicéridos, se han recomendado ya que aportan más del doble de energía por unidad de peso que los polisacáridos (3).

El glicerol es un componente alcohólico de todos los tejidos animales y vegetales (4), que se utiliza como fuente gluconeogénica para la prevención de cetosis después del parto. Así como también incrementa las concentraciones de glucosa e insulina en plasma con el propósito de mejorar el comportamiento reproductivo de la oveja y disminuir los problemas metabólicos (5).

No obstante, no existen investigaciones que demuestren el mecanismo por el cual el glicerol vía dieta tiene efecto en la actividad reproductiva de la

oveja. Por ello en el presente estudio se pretende dar una aportación del efecto flushing con glicerol vía dieta en la época de anestro estacional en parámetros reproductivos en ovejas de pelo.

MATERIALES Y MÉTODOS

La fase de campo se realizó en la granja “El Asilo”, que se localiza en San Luis Huexotla, Texcoco, Estado de México, a 19°21' Latitud Norte y 98°53' Longitud Oeste, a una altura de 2250 msnm. El estudio se realizó de marzo a diciembre del 2005. Se evaluaron cuatro niveles de ofrecimiento de glicerol: 0, 100, 200 y 300 mL/1.5 kg de alimento. Las dosis fueron tomadas con base en los estudios realizados por (6), las cuales fueron administradas en forma oral.

El ofrecimiento del glicerol inició ocho días antes de la fecha esperada de la manifestación del estro y se mantuvo por este intervalo de tiempo. El glicerol se mezcló con el alimento ofrecido, en la cantidad especificada. A excepción de estos ocho días, todas las ovejas recibieron la misma dieta desde un mes antes del ofrecimiento del glicerol y hasta el momento del parto. La dieta ofrecida se muestra en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Ingredientes y composición nutritiva de la dieta base experimental.

Ingrediente	Inclusión (BS, %)
Rastrojo	41.00
Melaza	19.00
Salvado de trigo	38.70
Minerales para reproductoras	0.80
Urea	0.50
Composición nutritiva estimada^(*)	
Energía metabolizable, Mcal kg ⁻¹ MS ^{-1**}	2.20
Proteína cruda, %	12.20
Proteína cruda degradable en rumen, %	8.00
Proteína cruda no degradable en rumen, %	4.20
Fibra cruda, %	18.80
Fibra detergente neutro, %	48.22
Fibra detergente ácido, %	22.11
Extracto etéreo, %	2.33
Cenizas, %	6.33

^{*}Calculada por el programa TAURUS, Departamento of Animal Science, University of California Davis, CA.

^{**}Calculada por el programa FEEDTAG, Departamento of Animal Science, University of California Davis, CA.

La rutina de alimentación que se llevó acabo fue a libre acceso, 50% a las 7:00 y el resto a las 16:00 horas. Se utilizaron 39 ovejas primalas y multíparas con un peso promedio de 45 kg. Las ovejas se identificaron individualmente y se asignaron al azar a uno de los cuatro niveles de glicerol que les correspondía; previamente al estudio se desparasitaron y vacunaron vía subcutánea con Ivermectina (1 mL por cada 50 kg de peso vivo; Ivomec^{MR}), y contra enfermedades Clostridiales (*Clostridium chauvoei*, *C. septicum*, *C. novyi tipo B*, *C. sordeli*, *C. perfringens tipo C y D*) (2.5 mL borrega⁻¹; Ultrabac 7^{MR}).

Las ovejas fueron sometidas a un protocolo de sincronización del estro con esponjas intravaginales impregnadas con 60 mg de acetato de Fluorogestona (FGA Chronogest, Intervet), posteriormente 10 días después de la inserción de las esponjas se les administró 1 cm³ (7.5 mg) de prostaglandina y en el día 12 se removieron las esponjas. Doce horas después de la remoción de las esponjas se detectaron estros con ayuda de sementales con mandil para no permitir la cópula. La detección de estros se realizó cada cuatro horas, por dos días. Doce horas después de haberse presentado el estro las ovejas se inseminaron intrauterinamente por laparoscopia. Diez días después de haberse presentado el estro se evaluó la tasa ovulatoria, a los 16 días el retorno al estro y a los 45 días después de la manifestacion del estro se realizó el diagnóstico de gestación con ayuda de un ultrasonido Sonovet 600 (Madison, Universal Medical Systems Inc.) vía transrectal y finalmente se evaluó la prolificidad al parto contando el número de corderos nacidos por hembra parida.

Las variables de respuesta fueron manifestación del estro, tasa ovulatoria, retorno al estro, porcentaje de gestación y prolificidad. Se utilizó la

prueba de Ji-cuadrada para el análisis de las variables manifestación del estro, retorno al estro y porcentaje de gestación; y para tasa ovulatoria y prolificidad se utilizó un diseño completamente al azar con las covariables, peso vivo y número de parto. Para el análisis se utilizó el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (7). En el análisis estadístico de los datos se tomaron los siguientes criterios: para la manifestación del estro y porcentaje de gestación sujetas a los niveles de glicerol se tomaron en cuenta todas las ovejas; para retorno al estro y tasa ovulatoria se tomaron en cuenta a las ovejas que manifestaron estro; y, para prolificidad se tomaron en cuenta aquellas ovejas que parieron.

Se aplicaron contrastes ortogonales, ajustando los coeficientes para tratamientos igualmente espaciados. Estos contrastes se realizaron para aquellas variables donde $P = 0.05$ o cercana.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

La manifestación de estros no fue influida ($P>0.05$) por la cantidad de glicerol ofrecido, en promedio cerca de 82% de las ovejas manifestaron estro (Cuadro 2). Este resultado concuerda con los reportados en ovejas Suffolk y sus cruza (8) o en razas de pelo con un porcentaje general de 88% (9), pero inferiores a los reportados por Gherardi y Lindsay (10) con un promedio de 93%.

Cuadro 2. Manifestación de estros en ovejas de pelo expuestas a un protocolo de sincronización y suplementadas con glicerol ocho días antes de la fecha de inseminación.

Variable	Glicerol (mL día ⁻¹)				Probabilidad
	0	100	200	300	
Número	10	9	10	10	
Manifestación del estro	7	7	9	9	
Proporción de estro (%)	70.00	77.78	90.00	90.00	0.58
EEM*	0.12	0.13	0.12	0.12	

*Error estándar de la media

El resultado obtenido en el presente estudio se le atribuye a que las ovejas se encontraban en un buen estado nutricional y al efecto del glicerol, ya que presentaron proporciones mayores a los reportados en literatura durante el periodo de anestro estacional.

La tasa ovulatoria mostró una tendencia ($P = 0.08$) a variar con la cantidad de glicerol en la dieta (Cuadro 3). El contraste de ovejas sin glicerol en la dieta contra las ovejas recibiendo de 100 a 300 mL de glicerol animal⁻¹ día⁻¹ indicó que la adición de glicerol en la dieta ocasionó un incremento promedio de 53% en la tasa ovulatoria con respecto a las ovejas sin glicerol (1.27 vs 1.94), al contrastar las ovejas sin glicerol y aquellas que recibieron la dosis de 100 mL

animal⁻¹ día⁻¹ de glicerol la tasa ovulatoria fue mayor ($P = 0.01$) con respecto a la primera (1.27 vs 2.3).

Cuadro 3. Tasa ovulatoria en ovejas de pelo expuestas a un protocolo de sincronización y suplementadas con glicerol ocho días antes de la fecha de inseminación.

Variable	Glicerol (mL día ⁻¹)				Probabilidad
	0	100	200	300	
Número de ovejas	7	7	9	9	
Tasa ovulatoria	1.27	2.3	1.85	1.67	0.08
EEM*	0.29	0.26	0.25	0.25	

Por contraste efecto cuadrático ($P = 0.02$, $R^2 = 0.25$)

El contraste 0 vs 100, 200, 300 mL de glicerol animal⁻¹ día⁻¹ fue diferente ($P = 0.05$) y 0 vs 100 mL de glicerol animal⁻¹ día⁻¹ ($P = 0.01$)

*Error estándar de la media

La tasa ovulatoria mostró una respuesta cuadrática ($P = 0.02$, $R^2 = 0.25$) a la cantidad de glicerol en la dieta, el patrón fue hacia un máximo a la dosis de 100 mL de glicerol animal⁻¹ día⁻¹ y gradual reducción a dosis mayores.

El resultado obtenido es superior a los reportados por Martínez (6) obteniendo una tasa ovulatoria promedio de 1.6 en ovejas que no fueron suplementadas, y para aquellas ovejas que fueron suplementadas la tasa ovulatoria fue superior a la obtenida con un promedio de 2.08 cuerpos lúteos. La suplementación con grano de lupino, el cual es alto en energía y proteína es efectiva para aumentar la tasa ovulatoria en ovejas en diferentes estaciones del año (9). Sin embargo, Stewart (11) menciona que los efectos inmediatos de la nutrición en incrementar la tasa ovulatoria son inconsistentes. Tal es el caso de Viñoles. (12) quien observó que la suplementación por siete días del día 8 al 14 del ciclo estral, incrementó la tasa ovulatoria en un 14%; sin embargo, la suplementación por seis días, durante los días 9 al 14 del ciclo estral con la

misma raza y la misma estación reproductiva no afectó la tasa ovulatoria (13). También Kiyama *et al.* (14) publicaron que 13 días después de la suplementación no encontraron diferencias en la tasa ovulatoria entre el testigo y el grupo suplementado. Los efectos inconsistentes en la tasa ovulatoria sugieren que el incremento pudiera depender del estatus folicular al comienzo de la suplementación nutricional, entre otros factores; además con base en estos patrones de investigación se infiere que la nutrición es uno de los factores más importantes que afectan la tasa ovulatoria; en particular el estatus energético, lo cual se demuestra con las dietas que contenían glicerol, mostrando mayor número de cuerpos lúteos por oveja con respecto a la dieta sin glicerol. Dentro de las dietas con glicerol, se presentó el mayor número de cuerpos lúteos con 100 mL de glicerol $\text{animal}^{-1} \text{ día}^{-1}$ disminuyendo de manera lineal con 300 mL de glicerol $\text{animal}^{-1} \text{ día}^{-1}$ lo cual se infiere que se presentó un ambiente uterino no confortable.

Los resultados de la variable retorno al estro se muestran en el Cuadro 4. En general no mostró una tendencia ($P>0.05$) a variar con el nivel de glicerol en la dieta. Sin embargo, se observa que el tratamiento sin glicerol obtuvo 67% más de proporción de ovejas que retornaron al estro con respecto a los tratamientos que contenían glicerol, no encontrándose diferencias estadísticas entre ellos debido al número reducido de ovejas que se asignaron por tratamiento.

Cuadro 4. Retorno al estro en ovejas de pelo expuestas a un protocolo de sincronización y suplementadas con glicerol ocho días antes de la fecha de inseminación.

Variable	Glicerol (mL día ⁻¹)				Probabilidad
	0	100	200	300	
Número	7	7	9	9	
Retorno al estro	3	1	2	2	
Proporción de retorno al estro (%)	42.86	14.29	22.22	22.22	0.6
EEM*	0.17	0.17	0.15	0.15	

*Error estándar de la media

El porcentaje de gestación se presenta en el Cuadro 5. No se encontró diferencia ($P>0.05$) entre los niveles de glicerol; sin embargo, al contrastar ($P = 0.09$) las ovejas sin glicerol con 100, 200, 300 mL de glicerol animal⁻¹ día⁻¹ tendió a ser diferente. Aunque al comparar la proporción de los tratamientos con glicerol, es muy notable su diferencia hasta en un 50%. Este resultado concuerda con los reportados por Hernández (15) obteniendo un porcentaje general de gestación de 55% en oveja Pelibuey; sin embargo, los resultados del presente estudio son menores a los reportados por Martínez (10) con un promedio del 63%.

Los resultados obtenidos infieren que las ovejas se encontraban sujetas al anestro estacional, porque no se encontró una interacción positiva entre las hormonas, metabolitos y otros factores que intervienen en el eje reproductivo. Además, las ovejas que fueron utilizadas en el presente estudio estaban con una condición corporal de 4 a 4.5 en una escala de 1 a 5, por lo tanto se infiere que se presentó un aumento en el metabolismo de progesterona y por

consiguiente a una degradación del ambiente uterino dando paso a provocar muertes embrionarias.

Cuadro 5. Porcentaje de gestación en ovejas de pelo expuestas a un protocolo de sincronización y suplementadas con glicerol ocho días antes de la fecha de inseminación.

Variable	Glicerol (mL día ⁻¹)				Probabilidad
	0	100	200	300	
Número	10	9	10	10	
Gestación (N)	3	6	6	6	
Proporción de gestación (%)	30.00	66.67	60.00	60.00	0.3
EEM*	0.16	0.17	0.16	0.16	

El contraste 0 vs 100, 200, 300 mL día⁻¹ fue diferente (P = 0.09)

*Error estándar de la media

Los resultados de prolificidad se muestran en el Cuadro 6. La prolificidad no presentó diferencias ($P > 0.05$) entre tratamientos, sin embargo, tiende a presentarse un efecto cuadrático ($P = 0.08$, $R^2 = 0.23$) conforme aumenta el nivel de glicerol tiende a aumentar la prolificidad presentándose el valor más alto en el nivel de 200 mL de glicerol animal⁻¹ día⁻¹; infiriendo a que conforme se aumentó el nivel de glicerol en la dieta se presentó un ambiente uterino inadecuado, dando paso a provocar muertes embrionarias. El resultado obtenido concuerda con el de Hernández (15) quien obtuvo una media general de 1.54 corderos por oveja parida.

Cuadro 6. Prolificidad en ovejas de pelo expuestas a un protocolo de sincronización y suplementadas con glicerol ocho días antes de la fecha de inseminación.

Variable	Glicerol (mL día⁻¹)				Probabilidad
	0	100	200	300	
Número de ovejas	3	6	6	6	
Prolificidad	1.06	1.53	1.76	1.17	0.3
EEM*	0.35	0.25	0.26	0.27	

Por contraste efecto cuadrático ($P = 0.08$, $R^2 = 0.23$)

*Error estándar de la media

CONCLUSIÓN

Aplicar *Flushing* en la época de anestro estacional usando la adición de glicerol en la dieta, promovió una mayor tasa ovulatoria sin afectar otros parámetros reproductivos. El patrón de respuesta en la tasa ovulatoria fue cuadrático por lo que debe usarse glicerol en concentraciones menores a $100 \text{ mL animal}^{-1} \text{ día}^{-1}$.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo de la Universidad Autónoma Chapingo y del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACYT**), por las facilidades otorgadas y el apoyo económico brindado durante los estudios de maestría del primer autor.

LITERATURA CITADA

1. Ortiz OJ, Pacheco JR, Ojeda CM. Crecimiento corporal de machos y hembras Pelibuey a través de medidas zoométricas. *In: Ciclo de Conferencias Sobre Evaluación, Comercialización y Mejoramiento Genético*. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. 2000. 76 p.
2. Blache D. Balance de energía y reproducción en rumiantes: procesos endocrinos y neuroendocrinos. *In: Memorias de Fisiología de la Reproducción en Rumiantes*. Colegio de Posgraduados, Montecillo, Estado de México, México. 2003. pp: 151-169.
3. David LN, Michael MC, Claudi MC. Principios de Bioquímica. Ed. Omega. Barcelona, España. 2000. 366 p.
4. Church DC, Pond WG. Basic Animal Nutrition and Feeding. Third Edition. John Wiley & Sons. New York. USA. 1998. 472 p.
5. Pickett MM, Piepenbrink MS, Overton TR. Effects of propylene glycol or fat drench on plasma metabolites, liver composition, and production of dairy cows during the periparturient period. *J Dairy Sci* 2003 (86): 2113-2121.
6. Martínez TVM. Efecto del tratamiento con una solución glucogénica oral sobre la tasa de ovulación en ovejas Pelibuey. [Tesis Maestría]. Programa de Posgrado. Universidad Nacional Autónoma de México. 2004. 107 p.
7. SAS. Users Guide: Statistics. SAS institute Inc., Cary, N.C. 2001.

8. Crosby TF, Boland MP, Gordon I. Effect of progestagen treatment on the incidence of oestrus and pregnancy rates in ewes. *Anim Reprod Sci* 1991. (24): 109-118.
9. Godfrey RW, Collins JR, Hensley EL, Wheaton JE. Estrus synchronization and artificial insemination of hair sheep ewes in the tropics. *Theriogenology* 1998. (51): 985-997.
10. Gherardi PB, Lindsay DR. Response of ewes to lupin supplementation at different times of the breeding season. *Aust J Exp Agric Anim Husb* 1982. (22): 264–267.
11. Stewart R. The effect of nutrition on the ovulation rate of the ewe. [Doctoral Thesis]. Department of Animal Science, University of Western Australia. 1990. 206 p.
12. Viñoles C. Effect of nutrition on follicle development and ovulation rate in the ewe. [Doctoral Thesis]. Department of Clinical Chemistry, Swedish University of Agricultural Sciences, Faculty of Veterinary Medicine. 2003. 56 p.
13. Viñoles C, Forsberg M, Martin GB, Cajarville C, Repetto J, Meikle A. Short-term nutritional supplementation of ewes in low body condition affects follicle development due to an increase in glucose and metabolic hormones. *J Reprod Fertil* 2004. (129): 299–309.
14. Kiyma Z, Alexander BM, Van EK, Murdoch WJ, Hallford DM, Moss GE. Effects of feed restriction on reproductive and metabolic hormones in ewes. *J Anim Sci* 2004. (82): 2548–2557.

15. Hernández LG. Comportamiento reproductivo de ovejas Pelibuey con diferente tasa de ovulación. [Tesis Maestría]. Programa de Posgrado en Producción Animal. Universidad Autónoma Chapingo. Febrero. 2003. 70 p.

CAPÍTULO V

**FERMENTACIÓN RUMINAL DE GLICEROL Y SU EFECTO EN LOS
PARÁMETROS REPRODUCTIVOS EN OVEJAS DE PELO EN LA ÉPOCA
REPRODUCTIVA**

**RUMINAL FERMENTATION OF GLYCEROL AND ITS EFFECT ON THE
REPRODUCTIVE PARAMETERS OF HAIRY SHEEP IN THE
REPRODUCTIVE PERIOD**

Román Méndez Castillo¹, Carlos Sánchez del Real^{1*}, Luis Alberto Romero
Miranda¹, Jaime Gallegos Sánchez², José Artemio Cadena Meneses¹, Carlos
Guillermo Germán Alarcon^{1**}, y Carlos G. Gutiérrez Aguilar³

RESUMEN

El glicerol es un precursor gluconoegénico que ayuda a mejorar los parámetros reproductivos. El objetivo del estudio fue evaluar la fermentación y la producción de los ácidos grasos volátiles (AGV) por efecto de la suplementación del glicerol vía dieta durante la época reproductiva en la manifestación del estro (ME), retorno al estro (RE), porcentaje de gestación (PG), tasa ovulatoria (TO) y prolificidad (P) en ovejas de pelo. Se utilizaron 88 ovejas multíparas, las cuales fueron asignadas al azar a los tratamientos 0, 100,

¹ Programa de Maestría en Producción Animal, Departamento de Zootecnia**, Universidad Autónoma Chapingo. Km 38.5. Carretera México-Texcoco. Chapingo, México. C.P. 56230. Tel: 5959521684. carloss561@aol.com*

² Colegio de Postgraduados, Área de Ganadería. Km. 35.5 Carretera México- Texcoco. Montecillo, Estado de México, México. C.P. 56230. Tel: 595 202 00 ext. 1723. gallegos@colpos.colpos.mx.

³ Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México

Artículo para ser sometido a la Revista Técnica Pecuaria en México.

200 y 300 mL día⁻¹ de glicerol. Ocho días previos a la probable ME se empezó con la suplementación. La dieta se proporcionó a libre acceso. Las ovejas se sometieron a un protocolo de sincronización de estros. Detectada la ME, las ovejas se inseminaron 12 horas después. A los 10 días del estro se evaluó la TO por medio de ultrasonografía, a los 16 días se evaluó el RE y a los 45 días se evaluó la PG por ultrasonografía y al parto se evaluó la P. Los datos se analizaron por medio de la prueba de Ji-cuadrada . Las ovejas no presentaron diferencias para ME, TO y P por efecto de la dosis de glicerol; pero sí para las variables RE y PG al contrastar el tratamiento 100 con 200 mL día⁻¹ de glicerol; así como también mostró el PG una respuesta cúbica ($P=0.04$, $R^2=0.07$) al nivel de glicerol en la dieta, el patrón fue hacia un máximo a la dosis de 200 mL día⁻¹ de glicerol. En conclusión, el glicerol afecta el RE y PG.

Palabras clave: Glucogénico, Pelibuey, reproducción, fermentación ruminal

ABSTRACT

Glycerol is a gluconeogenic precursor that helps to improve reproductive parameters. The objective of the study was to evaluate the fermentation and production of volatile fatty acids (VFA) by effect of supplementation of glycerol via diet during the reproductive period in estrus manifestation (EM), estrus return (ER), gestation percentage (GP), ovulatory rate (OR), and prolificacy (P) in hairy ewes. Eighty-eight multiparous ewes were utilized; the ewes were randomly assigned to the treatments 0, 100, 200, and 300 mL of glycerol per animal⁻¹ day⁻¹. Supplementation was set about eight days previous to the probable EM. Diet was provided under free access. Sheep were subjected to a protocol of estrus synchronization. Once EM was detected, sheep were inseminated 12 hours after. The OR was evaluated 10 days after estrus onset by means of ultrasonography, on day 16 ER was evaluated, and on day 45 GP was evaluated by ultrasonography, and at birth the P was evaluated. Data were analyzed by means of the chi-square test. There were no differences for EM, OR, and P by effect of the glycerol doses; but differences were found for the ER and GP variables when contrasting treatment 100 with 200 mL of glycerol per animal⁻¹ day⁻¹; also, GP showed a cubic response ($p=0.04$, $R^2=0.07$) to glycerol level in the diet. The pattern curved towards a maximum at the dosage of 200 mL of glycerol per animal⁻¹ day⁻¹. In conclusion, the glycerol affects ER and GP.

Key words: Gluconeogenic, Pelibuey, reproduction, fermentation ruminal

INTRODUCCIÓN

Los ovinos de pelo en México se han incrementado en los últimos años (1) debido, entre otras posibles razones, a la gran adaptabilidad que presentan estos animales a distintos climas, su rusticidad y tasa reproductiva. En México, se producen principalmente en las regiones tropicales, húmedas y secas (2).

El éxito de una explotación ovina depende, entre otros factores, de obtener un mayor número de corderos/hembra/año, este parámetro es conocido como prolificidad, la cual a su vez está influido por la tasa ovulatoria la que a su vez puede ser influida por el efecto nutricional de la oveja (3). El *flushing* es una estrategia alimenticia de suplementación energética, previa al empadre, cuya finalidad es estimular a los ovarios para que produzcan mayor número de oocitos e incrementar el número de crías por parto (3). Para incrementar el aporte energético de la dieta se han usado polisacáridos y lípidos, donde estos últimos se han preferido ya que aportan más del doble de energía por unidad de peso que los polisacáridos y particularmente se han recomendado el uso de los triglicéridos (4).

El glicerol es un componente alcohólico de los triglicéridos, presente en todos los tejidos animales y vegetales (5), y se ha utilizado como fuente gluconeogénica para incrementar la concentración de glucosa e insulina sanguínea, con la finalidad de mejorar el perfil hormonal relacionado positivamente en el comportamiento reproductivo de las ovejas (6). No obstante, no existen investigaciones que demuestren el mecanismo por el cual el glicerol, siendo un compuesto fácilmente metabolizado, induzca lo antes mencionado. Hay escasa información sobre la fermentación ruminal del glicerol, los productos de ésta y su relación con los parámetros reproductivos de las ovejas, por lo que en la presente investigación se realizaron dos estudios; en el primero se determinó la fermentación ruminal *in vitro* del glicerol mediante la técnica de producción de gas, y la producción de ácidos grasos volátiles (AGV). En el segundo estudio se determinó el efecto de la suplementación de glicerol vía dieta en la época reproductiva en parámetros reproductivos en ovejas de pelo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Fermentación ruminal del glicerol y producción de AGV *in vitro*, mediante la técnica de producción de gas

Se determinó la producción de gas derivado de la fermentación ruminal *in vitro* del glicerol y dieta base (Cuadro 1) suplementada con glicerol, mediante la técnica de Menke y Steingass (7). Los tratamientos que se evaluaron fueron 0, 0.66, 1.33, 2.66 mL de glicerol g⁻¹ de dieta, equivalentes a 0, 100, 200 y 300 mL de glicerol animal⁻¹ día⁻¹; y como testigo, un mL de glicerol como sustrato único. Se usaron frascos de cristal color ámbar y de 125 mL de capacidad, en los que se colocaron 0.5 g de dieta base (Cuadro 1) suplementada con glicerol y un mL de glicerol como sustrato único; se les agregó 100 mL de inóculo mixto de bacterias ruminales constituido de líquido ruminal fresco diluido (1:9) con una solución mineral reducida, la cual contenía: 300 mg de carbonato de sodio; 450 mg de fosfato de potasio dibásico; 450 mg de fosfato de potasio monobásico; 450 mg de sulfato de amonio, 900 mg de cloruro de sodio; 184 mg de sulfato de magnesio; 75 mg de cloruro de calcio; y dos gotas de rezarsurina (1% peso:volumen) como indicador de oxido-reducción, por litro de agua destilada. Los frascos se taparon herméticamente con un tapón de goma y un aro metálico y se incubaron en baño maría a 39 °C. La presión de gas producido se midió a las 1, 3, 6, 9, 12, 16, 20, 24, 28, 34, 43, 54, 66, 78 y 90 horas de incubación, utilizando un manómetro (1 kg cm⁻²). Se llevaron a cabo tres repeticiones de cada sustrato.

Cuadro 1. Composición nutritiva estimada de las dietas experimentales.

	Glicerol (mL día ⁻¹)			
	0	100	200	300
Materia seca (%)	100.00	100.00	100.00	100.00
Materia orgánica (%)	93.12	94.39	94.67	96.05
Energía metabolizable, Mcal kg ⁻¹ MS*	2.78	2.91	3.20	2.97
Proteína cruda (%)	14.54	15.71	13.09	11.80
Fibra cruda (%)	6.51	6.29	5.12	4.42
Extracto etéreo (%)	1.51	3.37	10.48	2.92
Fibra detergente neutro (%)	43.42	35.61	22.69	19.99
Fibra detergente ácido (%)	1.90	5.65	2.12	6.56
Cenizas (%)	6.88	5.61	5.33	3.95

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

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

Los datos de presión de gas (kg cm⁻²) fueron transformados a volumen de gas (mL g⁻¹) empleando la ecuación de regresión lineal $y = 0.0186x - 0.0273$ introduciendo volumen de gas a los frascos herméticamente cerrados por medio de jeringas de 5 cm³ y midiendo su presión por medio de un manómetro. Estos datos fueron analizados gráficamente como volumen fraccional (mL g⁻¹ por periodo medido) y volumen acumulado (mL g⁻¹ a 96 h) de gas producido para cada tratamiento y repetición. Con el volumen acumulado se estimaron los parámetros de fermentación: volumen máximo de gas (V_{max} ; mL g⁻¹ MS), tasa de producción de gas (S ; h⁻¹) y el tiempo de retardo (L ; h⁻¹), mediante regresión no lineal y el modelo logístico $Y = v / (1 + \exp(2 - 4 * s * (t - L)))$, propuesto por Schofield y Pell (8). Los parámetros estimados fueron analizados mediante el procedimiento GLM de SAS (9) y la prueba de Tukey de comparación de medias ($\alpha = 0.05$), mediante un diseño completamente al azar.

Durante la fermentación, se tomaron cuatro mililitros de inóculo ruminal de los frascos, para determinar la proporción molar de ácidos grasos volátiles a las 12 y 24 horas de fermentación. A las muestras se les agregó un mililitro de ácido metafosfórico al 25% y posteriormente se analizaron por cromatografía de gases, empleando la metodología descrita por Erwin *et al.* (10). A la proporción molar (%) de los AGV se les aplicó raíz cuadrada con el fin de tener

una distribución normal y fueron analizados mediante el procedimiento GLM de SAS (9) con la prueba de Tukey de comparación de medias ($\alpha = 0.05$), mediante un diseño completamente al azar.

Efecto de la suplementación de glicerol vía dieta en la época reproductiva en parámetros reproductivos en ovejas de pelo

El experimento se llevó a cabo en el “Campus Córdoba” del Colegio de Postgraduados, durante los meses de noviembre a marzo del 2006; el Campus se ubica en el km 348 de la carretera federal Córdoba-Veracruz a 18° 53' Latitud Norte y 96° 56' Longitud Oeste, a una altura de 860 msnm (11). Se utilizaron 88 ovejas multíparas con un peso promedio de 38 kg. Las ovejas fueron asignadas al azar a uno de los cuatro niveles de glicerol evaluados (0, 100, 200 y 300 mL de glicerol animal⁻¹ día⁻¹). El glicerol de acuerdo con los tratamientos se ofreció mezclado con 0.5 kg de concentrado alimenticio (Cuadro 1) y se les proporcionó a las ovejas a las 7:00 horas, ocho días antes de la fecha estimada para la presentación del estro. La dieta se complementó con forraje estrella (*Cynodon plectostachyus*) ofrecido a libre acceso en comederos. Los animales se mantuvieron en confinamiento total 15 días previos al ofrecimiento del glicerol y 17 días posteriores a la inseminación, proporcionándoles 0.3 kg oveja⁻¹ día⁻¹ de concentrado.

Previamente al estudio, las ovejas se identificaron individualmente, desparasitaron y vacunaron vía subcutánea con Ivermectina (1 mL por cada 50 kg de peso vivo; Ivomec^{MR}), y contra enfermedades Clostridiales (*Clostridium chauvoei*, *C. septicum*, *C. novyi* tipo B, *C. sordeli*, *C. perfringens* tipo C y D) (2.5 mL borrega⁻¹; Ultrabac 7^{MR}).

Cuatro días antes del ofrecimiento de glicerol las ovejas fueron sometidas a un protocolo de sincronización del estro con esponjas intravaginales impregnadas con 60 mg de acetato de Fluorogestona (FGA Chronogest, Intervet); posteriormente, 10 días después de la inserción de las esponjas se les administró 7.5 mg de prostaglandina (Prosolvin, Intervet) y el día 12 se removieron las esponjas. Doce horas después de remover las

esponjas se detectaron estros con ayuda de sementales con mandil para no permitir la cópula. La detección de estros se realizó cada 4 horas, por dos días. Doce horas después del inicio del estro las ovejas se inseminaron intrauterinamente por laparoscopia. Diez días después de haberse presentado el estro se determinó la tasa ovulatoria, 16 días el retorno al estro y 45 días después se realizó el diagnóstico de gestación con ayuda de un ultrasonido Sonovet 600 (Madison, Universal Medical Systems Inc.) vía transrectal y por último se evaluó la prolificidad al parto contando el número de corderos nacidos por hembra parida.

Las variables de respuesta fueron manifestación del estro, tasa ovulatoria, retorno al estro, porcentaje de gestación y prolificidad. Se utilizó la prueba de Ji-cuadrada para el análisis de las variables presencia del estro, retorno al estro e incidencia de gestación; y para tasa ovulatoria y prolificidad se utilizó un diseño completamente al azar con las covariables peso vivo y número de parto. Para el análisis se utilizó el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (9). En el análisis estadístico de los datos se tomaron los siguientes criterios: para la manifestación del estro y porcentaje de gestación sujetas a los niveles de glicerol se tomaron en cuenta todas las ovejas; para retorno al estro y tasa ovulatoria se tomaron en cuenta a las ovejas que manifestaron estro; y, para prolificidad se tomaron en cuenta aquellas ovejas que parieron.

Se aplicaron contrastes ortogonales, ajustando los coeficientes para tratamientos igualmente espaciados. Estos contrastes se realizaron para aquellas variables donde $P=0.05$ o cercano.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Fermentación ruminal del glicerol y producción de AGV *in vitro*, mediante la técnica de producción de gas

Volumen fraccional de gas: como puede observarse en la Figura 1, el tratamiento que contenía sólo glicerol mostró el mayor volumen fraccional de gas entre las 40 y 60 h de incubación, mientras que la dieta con o sin glicerol lo presentó entre las 10 y 20 h de incubación (Figura 1). Esto indica, que el glicerol solo, se fermenta produciendo gas más tardíamente que las dietas, inclusive si llevan glicerol. Se sabe que el glicerol es un compuesto que es incorporado y metabolizado rápidamente por las células microbianas, pero de acuerdo con el volumen fraccional de gas, el glicerol tiene su mayor catabolismo con la liberación de gas (muy probablemente bióxido de carbono) después de las 40 h de incubación *in vitro* (12).

Volumen acumulado y parámetros de fermentación: como resultado del volumen fraccional, el volumen acumulado a 96 h de incubación difirió ($P < 0.05$) entre el tratamiento de glicerol solo con respecto a la dieta (Cuadro 2), tal efecto se aprecia en la Figura 2 donde el glicerol presentó el menor volumen acumulado y por lo tanto menor fermentación potencial. Con las dietas conteniendo glicerol, el volumen máximo de gas acumulado se redujo sin llegar a ser significativo ($P > 0.05$).

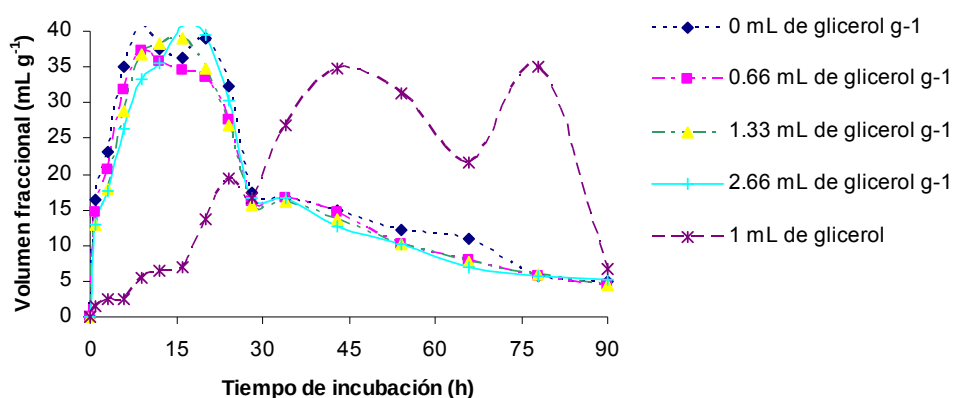


Figura 1. Volumen fraccional (mL g^{-1}) de gas producido por la fermentación ruminal *in vitro* de glicerol y dietas suplementadas con glicerol.

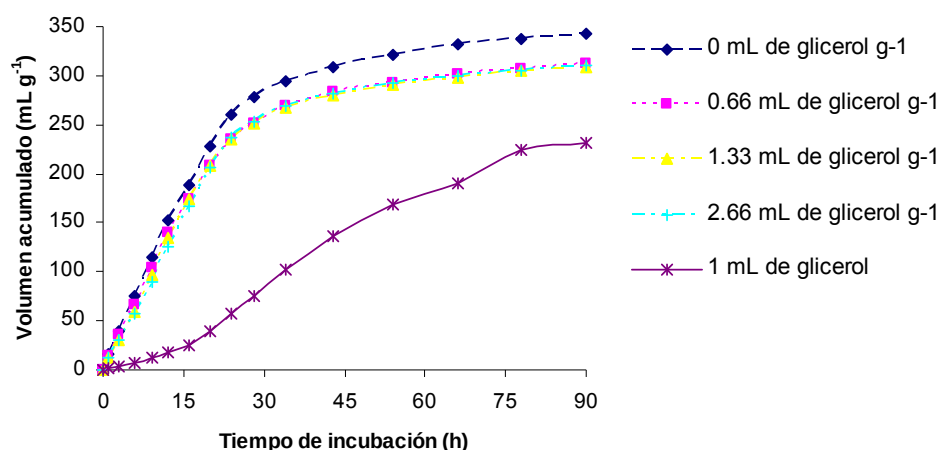


Figura 2. Volumen acumulado (mL g^{-1}) de gas producido por la fermentación ruminal *in vitro* de glicerol y dietas suplementadas con glicerol.

De igual forma, el tiempo de retardo (L) y la tasa de producción de gas (S) fueron distintas ($P < 0.05$) entre el glicerol y el resto de los tratamientos (Cuadro 2). La tasa de producción de gas ($0.022 \text{ mL g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) fue menor y el tiempo de retardo (14.9 h) fue mayor, para el glicerol solo, lo cual concuerda con el hecho del que el glicerol mostró el mayor volumen fraccional de gas más tardíamente (40 - 60 h) en comparación a las dietas con o sin glicerol (10 y 20 h; Figura 1, Cuadro 2). En el Cuadro 2, también se puede apreciar que la adición de glicerol a la dieta base ocasiona que el tiempo de retardo aumente y la tasa de producción de gas disminuya, conforme se incrementa la cantidad de glicerol, pero sin que esto sea significativo ($P > 0.05$).

Cuadro 2. Parámetros de fermentación y ácido butírico de las cuatro dietas administradas a ovejas de pelo expuestas a un protocolo de sincronización y suplementadas con glicerol ocho días antes de la fecha de inseminación.

Tratamiento	V mL g MS^*	L h^{**}	S h^{-1+}	Ácido butírico (%)
0 mL de glicerol g^{-1}	324.67 ^A	1.4287 ^B	0.0391 ^A	17.64 ^a
0.66 mL de glicerol g^{-1}	294.90 ^{AB}	1.4518 ^B	0.0394 ^A	15.21 ^a
1.33 mL de glicerol g^{-1}	292.13 ^{AB}	2.1812 ^B	0.0413 ^A	9.61 ^b
2.66 mL de glicerol g^{-1}	294.63 ^{AB}	2.6609 ^B	0.0410 ^A	21.16 ^a
*1 mL de glicerol	231.43 ^B	14.986 ^A	0.0219 ^B	3.24 ^c

* V mL g MS . Volumen de gas que se desprendió durante la incubación de los sustratos evaluados

** L h. Tiempo en que se empezaron a fermentar las dietas después de incubarlas

+ S h^{-1} . Tasa de producción de gas

Proporción molar de ácidos grasos volátiles

El análisis estadístico para la proporción molar de los AGV, mostró que hubo interacción ($P < 0.05$) tratamiento x tiempo de fermentación para los ácidos acético y propiónico. La Figura 3 muestra esta interacción y se observa que la concentración del ácido acético a las 12 y 24 h de fermentación, prácticamente no se modifica con la dieta sola o adicionada de 0.66 mL de glicerol g^{-1} de dieta, en tanto que disminuye, cuando la dieta contiene 1.33 y 2.66 mL por gramo de sustrato o con la fermentación del glicerol solo, por lo que se infiere que esta disminución se debe a la asimilación que hacen de éste los microorganismos, dando paso a producir dióxido de carbono o metano. Por el contrario, la concentración del ácido propiónico aumentó entre la hora 12 y 24 de fermentación, particularmente cuando la dieta contiene 1.33 mL de glicerol. Este comportamiento fue más marcado con la fermentación del glicerol solo (Figura 4).

El comportamiento anterior se relaciona a que el glicerol es una fuente gluconeogénica (6) que se metaboliza rápidamente tal cual, dando paso a formar ácido propiónico (12). Este hecho puede tener efecto en la reproducción animal ya que llegando al hígado es oxidado o transformado para contribuir de un 30 a 50% en la formación de glucosa y el glicerol solo en un 5% (13), dando paso a mejorar el perfil hormonal relacionado positivamente en el comportamiento reproductivo de las oveja.

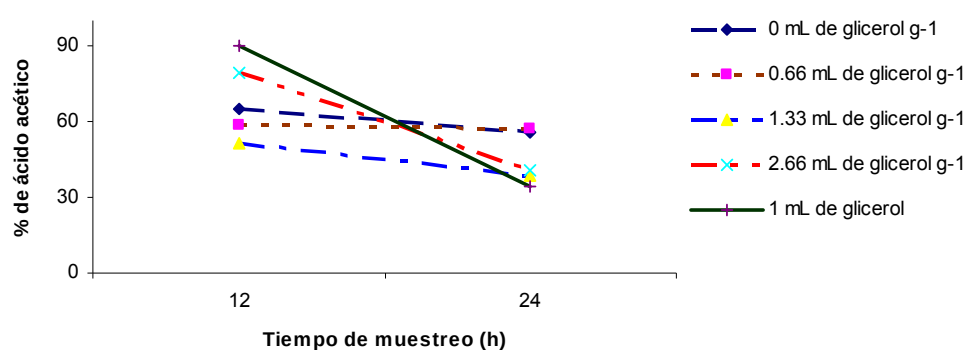


Figura 3. Proporción molar (%) de acético a 12 y 24 horas de fermentación ruminal *in vitro* de glicerol y dietas suplementadas con glicerol.

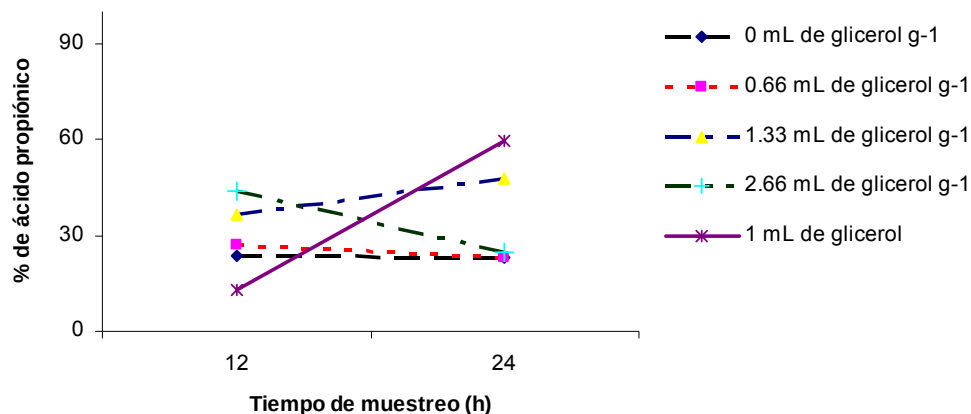


Figura 4. Proporción molar (%) de propiónico a 12 y 24 horas de fermentación ruminal *in vitro* de glicerol y dietas suplementadas con glicerol.

Para el ácido acético no se encontraron diferencias ($P>0.05$) entre los niveles de glicerol adicionados en la dieta; sin embargo, para las horas de medición fueron diferentes ($P<0.05$) mostrando 22.35% más de ácido acético a la hora 12 lo cual se relaciona con el tiempo de fermentación, presentándose en las dos primeras horas para las dietas evaluadas y 14 h para el glicerol, lo que dio paso a una mayor acumulación del volumen de gas para las dietas que se fermentaron más rápidamente (Cuadro 2).

Respecto al ácido butírico no se encontró interacción tratamiento X tiempo de fermentación, pero hubo efecto ($P<0.05$) del nivel de glicerol adicionado en la dieta (Cuadro 2). El tratamiento con glicerol solo generó la menor proporción de ácido butírico (Cuadro 2), seguido del tratamiento con 1.33 mL g⁻¹ de sustrato de glicerol y los tratamientos restantes fueron superiores a los antes mencionados; además, la proporción de ácido butírico fue diferente ($P=0.01$) en los tiempos de medición obteniendo la mayor cantidad a la hora 24.

Efecto de la suplementación de glicerol vía dieta en la época reproductiva en parámetros reproductivos en ovejas de pelo

La presencia de estros no fue influida ($P>0.5$) por el nivel de glicerol en la dieta, en promedio el 96% de las ovejas mostraron estro. Este resultado es mayor a los reportados con ovejas Suffolk y sus cruizas (14) o en razas de pelo con un porcentaje general de 88% (15), así como también a los reportados por Gherardi y Lindsay (16) con un promedio de 93%. Estos resultados son favorables debido a que las ovejas se encontraban dentro de la época reproductiva.

La tasa ovulatoria no fue influida ($P=0.7$) por el nivel de glicerol ofrecido, obteniendo un promedio general de 2.2 cuerpos lúteos oveja⁻¹. El resultado obtenido es mayor a los reportados por Martínez (17) con una tasa ovulatoria promedio de 1.6 en ovejas que no fueron suplementadas, y de 2.08 cuerpos lúteos oveja⁻¹ en aquellas ovejas que fueron suplementadas. La suplementación con grano de lupino, el cual es alto en energía y en proteína es efectiva para aumentar la tasa ovulatoria en ovejas en diferentes estaciones del año (16). Sin embargo, Stewart (18) menciona que los efectos inmediatos de la nutrición en incrementar la tasa ovulatoria son inconsistentes. Tal es el caso de Viñoles (19) que observó que la suplementación por siete días del día 8 al 14 del ciclo estral incrementó la tasa ovulatoria en un 14%; sin embargo, la suplementación por seis días, durante los días 9 al 14 del ciclo estral con la misma raza y la misma estación reproductiva no afectó la tasa ovulatoria (20). También Kiyma *et al.* (21) publicaron que 13 días después de la suplementación no encontraron diferencias en la tasa ovulatoria entre el grupo testigo y el grupo suplementado. Los efectos inconsistentes en la tasa ovulatoria sugieren que este incremento pudiera depender del estatus folicular al comienzo de la suplementación nutricional, entre otros factores. Con base en estos patrones de investigación se infiere que la nutrición es uno de los factores más importantes que afectan la tasa ovulatoria.

El retorno al estro no fue influido ($P>0.05$) por el nivel de glicerol en la dieta (Cuadro 3); sin embargo, el retorno al estro con 100 mL de glicerol animal⁻¹ día⁻¹ manifestó la tendencia ($P=0.06$) a ser 27% mayor en comparación al nivel de 200 mL de glicerol animal⁻¹ día⁻¹. El resultado anterior se asoció a que las ovejas que recibieron 100 mL de glicerol animal⁻¹ día⁻¹ obtuvieron 15.96% menos de ácido propiónico de acuerdo con los resultados que se obtuvieron en la presente investigación. Lo que probablemente con llevó a que se produjera menos cantidad de glucosa en sangre y por lo tanto no quedaran gestantes y retornaran las ovejas al estro.

Cuadro 3. Retorno al estro en ovejas de pelo expuestas a un protocolo de sincronización y suplementadas con glicerol ocho días antes de la fecha de inseminación.

Variable	Glicerol (mL día ⁻¹)				Probabilidad
	0	100	200	300	
Número	22	20	22	20	
Retorno al estro	7	9	4	5	
Proporción de retorno al estro (%)	31.82	45.00	18.18	25.00	0.2
EEM*	0.09	0.10	0.09	0.10	

El contraste 100 vs 200 mL día⁻¹ fue diferente ($P = 0.06$)

*Error estándar de la media

El porcentaje de gestación mostró una tendencia ($P=0.07$) a variar con el nivel de glicerol en la dieta (Cuadro 4). Tendencia ($P=0.08$) que se confirmó también en los contrastes 0 vs 200; 100 vs 300 mL de glicerol animal⁻¹ día⁻¹ y que fue significativo ($P=0.01$) con el contraste 100 vs 200 mL de glicerol animal⁻¹ día⁻¹. Además mostró una respuesta cúbica ($P=0.04$, $R^2=0.07$) al nivel de glicerol en la dieta, presentándose el valor más alto con 200 mL de glicerol animal día⁻¹.

El porcentaje de gestación de la presente investigación fue mayor a los reportados por Hernández (22) al reportar un porcentaje general de 55% de gestación en oveja Pelibuey; sin embargo, fue inferior a los reportados por Martínez (17) con un promedio del 63%.

Los resultados obtenidos en el porcentaje de gestación se relacionaron con el porcentaje obtenido de ácido propiónico, es decir que al adicionar 100 y 200 mL de glicerol en la dieta la cantidad del ácido propiónico aumentó progresivamente en conjunto con el porcentaje de

gestación, disminuyendo dicha variable y el porcentaje de ácido propiónico en el tratamiento de 300 mL de glicerol, lo cual se puede atribuir a que las ovejas presentaron problemas metabólicos durante el periodo de suplementación del glicerol en dieta.

Cuadro 4. Porcentaje de gestación en ovejas de pelo expuestas a un protocolo de sincronización y suplementadas con glicerol ocho días antes de la fecha de inseminación.

Variable	Glicerol (mL día ⁻¹)				Probabilidad
	0	100	200	300	
Número	23	22	22	21	
Ovejas gestantes	12	9	17	14	
Proporción de gestación (%)	52.17	40.91	77.27	66.67	0.07
EEM*	0.10	0.10	0.10	0.10	

Efecto lineal ($P = 0.08$, $R^2 = 0.08$)

Efecto cúbico ($P = 0.04$, $R^2 = 0.07$)

El contraste 0 vs 200 y 100 vs 300 mL día⁻¹ fueron diferentes ($P = 0.08$)

El contraste 100 vs 200 mL día⁻¹ fue diferente ($P = 0.01$)

*Error estándar de la media

La prolificidad no presentó diferencias ($P=0.6$) por efecto del nivel de glicerol, obteniendo un promedio general de 1.54 de prolificidad. El resultado obtenido concuerda con el de Hernández (2003).

CONCLUSIÓN

La adición de 1.33 mL por gramo de sustrato de glicerol en la dieta aumenta la proporción de ácido propiónico, lo que puede estar relacionado con una tendencia a aumentar el porcentaje de gestación en ovejas de pelo durante la época reproductiva, sin afectar otros parámetros reproductivos. El patrón de respuesta en el porcentaje de gestación fue cúbica, por lo que se sugiere usarse glicerol en concentraciones mayores de 100 mL de glicerol oveja⁻¹ día⁻¹ pero menores de 300 mL de glicerol oveja⁻¹ día⁻¹.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo de la Universidad Autónoma Chapingo, Colegio de Postgraduados y al Concejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACYT**), por las facilidades otorgadas y el apoyo económico brindado durante los estudios de maestría del primer autor.

LITERATURA CITADA

1. Sistema de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), SAGARPA. 2003.
2. Nuncio-Ochoa GJ, Nahed TB, Díaz HF, Escobedo AB, Salvatierra. Caracterización de los sistemas de producción ovina en el estado de Tabasco. *Agrociencia* 2001. (35):469-477.
3. Blache D. Balance de energía y reproducción en rumiantes: procesos endocrinos y neuroendocrinos. *In* Memorias de Fisiología de la Reproducción en Rumiantes. Colegio de Posgraduados, Montecillo, Estado de México, México. 2003. pp: 151-169.
4. David LN, Michael MC, Claudi MC. Principios de Bioquímica. Tercera edición. Madrid España. Ed. Omega. 2000. 366 p.
5. Church DC, Pond WG. Basic Animal Nutrition and Feeding. Third Edition. John Wiley & Sons. USA. 1988. 472 p.
6. Pickett MM, Piepenbrink MS, Overton TR. Effects of propylene glycol or fat drench on plasma metabolites, liver composition, and production of dairy cows during the periparturient period. *J Dairy Sci* 2003. (86): 2113-2121.
7. Menke KH, Steingass H. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Anim Res Dev* 1988. (28): 7-55.
8. Schofield P, Pell AN. Measurement and kinetic analysis of the neutral detergent soluble carbohydrate fraction of legumes and grasses. *J Anim Sci* 1995. (73): 3455-3463.
9. SAS. Users Guide: Statistics. SAS institute Inc., Cary, N.C. 2001.
10. Erwin ES, Marco GJ, Emery E. Volatile fatty acids analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. *J Dairy Sci* 1961. (44): 1768-1771.
11. García E. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. Tercera edición. México, D.F. Ed. Offset. 1982. 246 p.

12. Herrera H. Bioquímica. Primera edición. Madrid, España. Ed. Interamericana. 1986. 352 p.
13. Jenkins TC, Palmquist DL. Effect of fatty acids or calcium soaps on rumen and total nutrient digestibility of dairy rations. *J Dairy Sci* 1984. (67): 978-986.
14. Crosby TF, Boland MP, Gordon I. Effect of progestagen treatment on the incidence of oestrus and pregnancy rates in ewes. *Anim Reprod Sci* 1991. (24): 109-118.
15. Godfrey RW, Collins JR, Hensley EL, Wheaton JE. Estrus synchronization and artificial insemination of hair sheep ewes in the tropics. *Theriogenology* 1998. (51): 985-997.
16. Gherardi P.B, Lindsay DR. Response of ewes to lupin supplementation at different times of the breeding season. *Aust J Exp Agric Anim Husb* 1982. (22): 264–267.
17. Martínez TVM. Efecto del tratamiento con una solución glucogénica oral sobre la tasa de ovulación en ovejas Pelibuey. [Tesis de Maestría]. Programa de Posgrado. Universidad Nacional Autónoma de México. 2004. 107 p.
18. Stewart R. The effect of nutrition on the ovulation rate of the ewe. [Doctoral Thesis]. Department of Animal Science, University of Western Australia. 1990. 206 p.
19. Viñoles C. Effect of nutrition on follicle development and ovulation rate in the ewe. [Doctoral Thesis]. Department of Clinical Chemistry, Swedish University of Agricultural Sciences, Faculty of Veterinary Medicine. 2003. 56 p.
20. Viñoles C, Forsberg M, Martin GB, Cajarville C, Repetto J, Meikle A. Short-term nutritional supplementation of ewes in low body condition affects follicle development due to an increase in glucose and metabolic hormones. *J Reprod and Fertil* 2004. (129): 299–309.

21. Kiyma Z, Alexander BM, Van EK, Murdoch WJ, Hallford DM, Moss GE. Effects of feed restriction on reproductive and metabolic hormones in ewes. *J Anim Sci* 2004. (82): 2548–2557.
22. Hernández LG. Comportamiento reproductivo de ovejas Pelibuey con diferente tasa de ovulación. [Tesis de Maestría]. Programa de Posgrado en Producción Animal. Universidad Autónoma Chapingo. Febrero. 2003. 70 p.