

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA**

**Instituto de Ciencias Agrícolas**



**DESARROLLO FETAL, METABOLISMO Y EFICIENCIA  
REPRODUCTIVA EN OVEJAS DE PELO SUBALIMENTADAS  
ALREDEDOR DE LA CONCEPCIÓN**

**T E S I S**

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**PRESENTA**

**RICARDO VICENTE PÉREZ**

**DIRECTOR**

**DR. ULISES MACÍAS CRUZ**

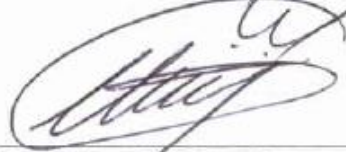
MEXICALI, B.C., MÉXICO

SEPTIEMBRE DE 2016

La presente tesis “**Desarrollo fetal, metabolismo y eficiencia reproductiva en ovejas de pelo subalimentadas alrededor de la concepción**” realizada por el **C. Ricardo Vicente Pérez**, dirigido por el **Dr. Ulises Macías Cruz** y co-dirigida por el **Dr. Leonel Avendaño Reyes**, ha sido evaluada y aprobada por el Comité Particular abajo indicado, como requisito parcial para obtener el grado de:

## Doctor en Ciencias Agropecuarias

Comité Particular



Dr. Ulises Macías Cruz  
Director de tesis



Dr. Leonel Avendaño Reyes  
Co-Director



Dr. Abelardo Correa Calderón  
Sinodal



Dr. Miguel Mellado Bosque  
Sinodal



Dr. Enrique Álvarez Almora  
Sinodal

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE BAJA CALIFORNIA



DOCTORADO EN  
CIENCIAS AGROPECUARIAS  
ICA-ICV

## **AGRADECIMIENTOS**

A dios por permitirme continuar en este camino. Gracias por cuidarme, por cuidar a mi familia y a mis amigos.

A la Universidad Autónoma de Baja California y al Instituto de Ciencias Agrícolas, por brindarme la dicha de realizar este proyecto.

Al CONACYT, por haberme otorgado la beca para mis estudios doctorales.

Al Dr. Ulises Macías Cruz, le agradezco por ser mi asesor, por enseñarme y haberme brindado el tiempo y la paciencia en la redacción de artículos científicos y de la tesis. También le agradezco por sus consejos y amistad brindada.

Al PhD. Leonel Avendaño Reyes, gracias por ser parte de mi formación académica. Gracias también por su apoyo y consejos otorgados para la redacción científica.

Al PhD. Abelardo Correa Calderón, de quien también he aprendido mucho durante estos años de estancia en el Instituto de Ciencia Agrícolas.

Al PhD. Miguel Mellado Bosque y al Dr. Enrique Álvarez Almora, gracias por su disponibilidad de tiempo en la revisión de la tesis y por formar parte de mi comité.

A mi mamá y hermanos. A mis amigos, maestros y compañeros de maestría y doctorado; Ángeles López, MC Daniel Álvarez, Yolanda Osorio, Rodolfo Pérez, Ángel Mejía, Miguel Sánchez, Ricardo Zamorano, Fabiola Guevara, Samantha Perard, Lizbeth Moreno, Filiberto Anzures, Dr. Miguel A. Gastelum, PhD. Cesar A. Meza, Ma. Guadalupe Calderón y en general todos los amigos del ICA y URUZA. A mis primos los BEES (Juan, Ceci, Jessi, Meli y German) y a toda la familia. Todos de alguna forma han contribuido en mi formación profesional y personal, de tal manera que por ello les digo gracias.

**Sinceramente, RICARDO**

## DEDICATORIAS

Esta tesis se la dedico a mi mamá **Guadalupe Pérez García**, quien incondicionalmente me ha brindado su amor en todo momento. Asimismo, les dedico la tesis a ustedes hermanos **Alejandro, Antonio, Rogelio y Arnulfo** ya que durante todos estos años han sabido brindarme todo su apoyo. A ti papá que estas en mi corazón, sé que en vida estarías feliz al verme recibir mi herencia, siempre lo dijiste “El estudio es la mayor herencia que los padres pueden dejar a sus hijos”.

Familia seguiremos adelante, mis logros siempre serán los de ustedes.

**Con afecto, RICARDO**

## ÍNDICE TEMÁTICO

<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	iii
<b>DEDICATORIAS</b> .....	iv
<b>ÍNDICE TEMÁTICO</b> .....	v
<b>LISTA DE TABLAS</b> .....	viii
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	ix
<b>RESUMEN</b> .....	x
<b>ABSTRACT</b> .....	xi
<b>CAPITULO I: INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>CAPITULO II: REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	4
2.1. Fisiología de la reproducción.....	4
2.1.1. Ciclo estral.....	4
2.1.2. Ovulación y fecundación.....	6
2.1.3. Gestación.....	8
2.1.3.1. Desarrollo embrionario.....	8
2.1.3.2. Desarrollo fetal.....	10
2.2. Comportamiento reproductivo en ovinos de pelo.....	13
2.2.1. Generalidades.....	13
2.2.2. Parámetros reproductivos.....	15
2.2.3. Sincronización del estro.....	16
2.3. Reproducción y balance energético.....	18
2.4. Restricción nutricional durante la concepción.....	20
2.4.1. Efecto en la actividad estral.....	21
2.4.2. Efecto en el desarrollo embrionario.....	22
2.4.3. Efecto en el desarrollo fetal y vida postnatal.....	24
2.4.4. Efecto en los parámetros reproductivos.....	25
2.5. Literatura citada.....	28
<b>CAPITULO III: ARTÍCULO I</b> .....	43
3.1. Resumen.....	43
3.2. Abstract.....	44
3.3. Introducción.....	45

3.4. Materiales y Métodos.....	46
3.4.1. Animales y tratamientos.....	46
3.4.2. Instalaciones y manejo de los animales.....	47
3.4.3. Mediciones en ovejas y fetos.....	48
3.4.4. Análisis estadístico.....	48
3.5. Resultados.....	49
3.6. Discusión.....	51
3.7. Conclusiones.....	54
3.8. Literatura citada.....	55
3.9. Tablas y figuras.....	65
<b>CAPITULO IV: Artículo 2.....</b>	<b>66</b>
4.1. Resumen.....	66
4.2. Abstract.....	68
4.3. Introducción.....	69
4.4. Materiales y métodos.....	70
4.4.1. Animales y manejo .....	70
4.4.2. Tratamientos y empadre.....	70
4.4.3. Peso vivo y condición corporal.....	71
4.4.4 Muestreo sanguíneo.....	71
4.4.5 Parámetros reproductivos.....	72
4.4.6. Análisis estadístico.....	72
4.5. Resultados.....	73
4.5.1. Peso vivo y condición corporal.....	73
4.5.2. Metabolitos séricos.....	73
4.5.3. Progesterona sérica.....	74
4.5.4. Parámetros reproductivos.....	74
4.6. Discusión.....	74
4.6.1. Peso vivo y condición corporal.....	74
4.6.2. Metabolitos séricos.....	75
4.6.3. Progesterona sérica.....	77
4.6.4. Parámetros reproductivos.....	78

4.7. Conclusiones.....	79
4.8. Literatura citada.....	80
4.9. Tablas y figuras.....	84
<b>CAPITULO V: CONCLUSIONES GENERALES.....</b>	<b>93</b>

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b>	Ingredientes y composición de las dietas experimentales.....	60
<b>Tabla 2.</b>	Cambios de peso vivo y condición corporal antes de la concepción, primer tercio de gestación o ambos periodos por efecto de la restricción nutricional en ovejas de pelo.....	62
<b>Tabla 3.</b>	Desarrollo vesicular, fetal y cotiledonario por efecto de la restricción nutricional en ovejas de pelo.....	63
<b>Tabla 4.</b>	Correlaciones de Pearson entre cambios de peso vivo pre-concepción, primer tercio de gestación o ambos periodos con el desarrollo vesicular y fetal al día 50 de gestación para cada tratamiento.....	64
<b>Tabla 5.</b>	Análisis de regresión lineal simple de variables correlacionadas en cada tratamiento.....	65
<b>Tabla 6.</b>	Ingredientes y composición química de las dietas usadas en el pre- y post-concepción.....	84
<b>Tabla 7.</b>	Peso vivo y condición corporal en ovejas de pelo híbridas sujetas a restricción nutricional alrededor de la concepción.....	85
<b>Tabla 8.</b>	Concentraciones de metabolitos en los primeros 20 días post-concepción de ovejas de pelo híbridas sujetas a restricción nutricional alrededor de la concepción.....	86
<b>Tabla 9.</b>	Efectos de restricción nutricional alrededor de la monta sobre la conducta estral, conservación de preñez y largo de gestación en ovejas de pelo híbridas tratadas con progesterona y PMSG para sincronización estral.....	87
<b>Tabla 10.</b>	Efectos de restricción nutricional alrededor de la concepción sobre la fertilidad y nacimiento de corderos en ovejas de pelo híbridas tratadas con progesterona y PMSG para sincronización estral.....	88

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Esquemas de alimentación basado en el porcentaje del peso vivo para ovejas no restringidas y restringidas totalmente, durante la pre-concepción y/o primer tercio de gestación ..... 59
- Figura 2.** Peso vivo y condición corporal en ovejas alimentadas adecuadamente o restringidamente durante la pre-concepción, primer tercio de gestación o ambos periodos..... 61
- Figura 3.** Efecto de día post-monta sobre las concentraciones séricas de glucosa a través de los primeros 20 días post-concepción en ovejas de pelo híbridas sujetas a restricción nutricional alrededor de la concepción..... 89
- Figura 4.** Efecto de día post-monta sobre las concentraciones séricas de colesterol y triglicéridos a través de los primeros 20 días post-concepción en ovejas de pelo cruzadas sujetas a restricción nutricional alrededor de la concepción..... 90
- Figura 5.** Efecto de día post-monta sobre las concentraciones séricas de proteína total y urea a través de los primeros 20 días post-concepción en ovejas de pelo híbridas sujetas a restricción nutricional alrededor de la concepción..... 91
- Figura 6.** Efecto de la interacción entre los tratamientos de restricción nutricional y los días post-monta sobre las concentraciones séricas de progesterona en ovejas de pelo cruzadas sujetas a restricción nutricional alrededor de la concepción..... 92

## RESUMEN

Los ovinos de pelo se encuentran distribuidos en todo México debido a su alta capacidad de adaptación a cualquier clima, rusticidad y habilidad para reproducirse en cualquier época del año. La producción de pequeños rumiantes en el país se realiza en agostaderos de muy mala calidad, por lo cual es común que los ovinos se subalimenten por la baja disponibilidad y mala calidad del forraje. Esto tiene un impacto negativo sobre la fertilidad de las ovejas y, en general, en la productividad del rebaño. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la restricción nutricional alrededor de la concepción sobre el estado corporal y metabólico materno post-concepción, el desarrollo fetal temprano y la eficiencia reproductiva en ovejas Katahdin x Pelibuey sujetas a un protocolo de sincronización de estro. Cuarenta y ocho ovejas multíparas no preñadas se distribuyeron 30 d antes de la concepción en cuatro tratamientos de restricción nutricional (RN, 60% de una alimentación adecuada para mantenimiento): 1) testigo, ovejas alimentadas adecuadamente, 2) ovejas con RN pre-concepción (30 d, RNPRES), 3) ovejas con RN post-concepción (50 d, RNPOS) y 4) ovejas con RN pre- y post-concepción (RNT). Las ovejas presentaron una reducción en el peso vivo y en la condición corporal durante los periodos que duró la RN, aunque en ovejas RNT, los efectos negativos sobre peso vivo y condición corporal perduraron hasta el parto. Al día 50 post-concepción, los fetos de ovejas RNPRES tuvieron mayor área fetal y abdominal, asimismo estuvieron contenidos en una vesícula amniótica más grande comparado con los fetos de ovejas testigo, RNPOS y RNT. El tamaño de cotiledones no fue afectado por el régimen nutricional. Adicionalmente, solamente RN post-concepción modificó algunas concentraciones de metabolitos en suero, específicamente redujo glucosa e incrementó colesterol. En general, los tratamientos de RN no alteraron la conducta de estro, la preñez, la tasa de pérdidas embrionarias, la fertilidad y la prolificidad en ovejas. En conclusión, la sub-alimentación periconcepcional provocó un impacto negativo sobre el estado corporal de las ovejas de pelo híbridas, asimismo, modificó el desarrollo fetal temprano cuando la subalimentación coincidió con el periodo pre-concepción. Asimismo, la desnutrición periconcepcional no alteró la eficiencia reproductiva alcanzada por ovejas de pelo sincronizadas con progestágenos y PMSG.

**Palabras clave: ovinos de pelo, reproducción, ciclo estral, nutrición divergente**

**ABSTRACT**

Hair breed sheep are distributed throughout Mexico because their high adaptability to harsh environment, rusticity and ability to reproduce most of the year. However, sheep production in the country is mainly under extensive conditions, so underfeeding in sheep is common during the dry seasons. This has a negative impact on the ewe fertility and, in general, on the productivity of flocks. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effect of periconceptual nutritional restriction on maternal body and metabolic status post-conception, early fetal development and reproductive efficiency in Katahdin x Pelibuey ewes subjected to an estrus synchronization protocol. Forty-eight multiparous non-pregnant ewes were assigned 30 days before conception to four nutritional restriction treatments (NR, 60% of maintenance nutritional requirements): 1) control, well-fed ewes, 2) ewes with NR pre-conception (30 d, NRPRE), 3) ewes with NR post-conception (50 d, NRPOS), and 4) ewes with NR pre- and post-conception (NRT). A reduction in the live weight and body condition score was observed in ewes during NR periods, although in RNT ewes, the negative effects on live weight and body condition remained until lambing. At d 50 post-conception, fetuses from NRPRE ewes had greater fetal and abdominal areas, likewise, bigger fetal amniotic vesicles compared with fetuses from control, NRPOS and RNT ewes. Size of cotyledons was not affected by the nutritional regimen. Additionally, only NR post-conception modified some serum metabolites concentrations, specifically decreased glucose and increased cholesterol. Overall, NR treatments did not alter estrous behavior, pregnancy, rate of embryonic losses, fertility and prolificacy in hybrid hair ewes. In conclusion, periconceptual underfeeding has a negative impact on maternal body status of crossbred hair ewes, likewise, modifies the early fetal development when underfeeding occur in line with pre-conception period. Although, the periconceptual undernutrition does not alter the reproductive efficiency achieved by these hair ewes synchronized with progesterone and PMSG.

**Keys word: hair sheep, reproduction, estrous cycle, divergent nutrition**

## **CAPITULO I**

### **INTRODUCCIÓN**

En el noroeste de México predominan condiciones climáticas áridas y semiáridas, por lo cual las lluvias son escasas y se concentran en ciertas épocas de año (SEMARNAT, 2012). Lo anterior se refleja en limitada producción de biomasa vegetal, y por ende, la calidad y la disponibilidad de forraje es baja en gran parte del año para la alimentación animal (Gonzalez-Bulnes et al., 2011; Sejian et al., 2012). Considerando que en esta región del país la producción ovina se desarrolla principalmente en forma extensiva y sin suplementación alimenticia estratégica, la subalimentación de las ovejas en ciertos meses del año es común y afecta directamente la fertilidad y productividad del rebaño (Martínez-Partida et al., 2011).

En ovejas, la restricción nutricional durante el periodo periconcepcional o primer tercio de gestación, además de afectar negativamente el peso vivo y la condición corporal, altera las concentraciones sanguíneas de metabolitos (glucosa, colesterol, otros) y hormonas metabólicas (insulina, factor de crecimiento similar a insulina [IGF-1] y leptina) (Scaramuzzi et al., 2006). Estas alteraciones en el estado metabólico de las ovejas como consecuencia de la desnutrición se reflejan en otros cambios endocrinológicos, y por ende, fisiológicos que ayudan a garantizar la sobrevivencia de la oveja, pasando a segundo término el correcto desarrollo de su capacidad productiva y reproductiva (Martin et al., 2004).

La restricción nutricional reduce la síntesis de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), así como la frecuencia pulsátil de liberación de la hormona luteinizante (LH) (Scaramuzzi y Martin, 2008). También, la subalimentación periconcepcional se ha relacionado con un aumento en los niveles de estrógenos pero sin que esto implique un mayor desarrollo folicular; contrariamente, se ha documentado un menor crecimiento del folículo pre-ovulatorio seguido de una reducción en la tasa ovulatoria con alteraciones en la conducta estral por efecto de la desnutrición en ovejas (Landau y Molle 1997; Boland et al., 2001; Abecia et al., 2006a). Por otra parte, la restricción nutricional se relaciona con un aumento en los niveles circulantes sanguíneos de progesterona (Lozano et al., 1998) y una reducción en el número de receptores endometriales para esta hormona durante la gestación temprana (Sosa et

al., 2006). Esto promueve cambios en el ambiente uterino, lo cual produce pérdidas embrionarias tempranas debido a fallas en el proceso de desarrollo del blastocito, reconocimiento materno de la gestación e implantación (Abecia et al., 2006a; Sosa et al., 2006). Así, el nivel de alimentación alrededor de la concepción puede incidir sobre algunos parámetros reproductivos como prolificidad, fertilidad, fecundidad y porcentaje de partos gemelares (Koyuncu y Canbolat, 2009; Abdel-Mageed y Abd El-Gawad, 2015a). No obstante, otros estudios no han reportado efecto alguno de la subalimentación periconcepcional sobre los parámetros reproductivos (Debus et al., 2012; García et al., 2016), a pesar de la presencia de alteraciones en el metabolismo de las ovejas.

Cabe mencionar que cuando la implantación embrionaria se logra en ovejas desnutridas, se producen una serie de adaptaciones epigenéticas y metabólicas en el producto, situación que conlleva a una inadecuada programación fetal que afecta la competencia funcional de las crías en su vida pre y postnatal (Fleming et al., 2012). Algunos estudios reportan problemas fetales en madres desnutridas durante el primer tercio de gestación, tales como resistencia a insulina, alteraciones en el trayecto del crecimiento y retardo en el crecimiento fetal (Oliver et al., 2010; Rumball et al., 2008, 2009). Otros estudios sugieren que la desnutrición alrededor de la concepción también tiene efectos negativos de larga duración en el desarrollo de las crías. Así, corderos nacidos a partir de ovejas desnutridas en la periconcepción presentan menor crecimiento post-natal, alta susceptibilidad a enfermedades, inadecuada capacidad reproductiva, un sistema inmunológico deprimido, entre otros (MacLaughlin et al., 2005; Muñoz et al., 2009; Sejian et al., 2010a; Abdel-Mageed et al., 2015b).

Basado en lo anterior, se planteó la hipótesis de que la restricción nutricional periconcepcional altera el metabolismo de ovejas híbridas de raza de pelo, lo cual a su vez conlleva a fallas en el crecimiento fetal temprano y, en general, en su eficiencia reproductiva cuando son tratadas con un protocolo de sincronización de estro. Cabe mencionar que existe cierto grado de contradicción en los resultados encontrados a través de las diferentes razas ovina cuando son sometidas a tratamientos de restricción nutricional periconcepcional. Además, en ovinos de raza de pelo no se ha estudiado sobre este tópico, a pesar de que actualmente se encuentran distribuidas por todo

México y, en general, en Latinoamérica bajo sistemas de producción extensivas principalmente. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la restricción nutricional periconcepcional sobre el estado corporal y metabólico materno post-concepción, el desarrollo fetal temprano y la eficiencia reproductiva de ovejas procedentes de cruces de razas de pelo.

## **CAPITULO II**

### **REVISIÓN DE LITERATURA**

#### **2.1. Fisiología de la reproducción**

La reproducción implica una serie de eventos fisiológicos y neuroendocrinos que desencadenan la producción de gametos en los órganos sexuales, lo cual permite la multiplicación y perpetuación de las diferentes especies animales (Gordon, 2003). En el presente apartado se abordará una revisión bibliográfica sobre fisiología de la reproducción animal, haciendo énfasis en los rumiantes, principalmente en ovinos. Las secciones del presente apartado incluyen el ciclo estral, ovulación, fecundación y gestación.

##### **2.1.1. Ciclo estral**

El ciclo estral es el intervalo de tiempo entre un estro y otro. En ovinos, la duración normal del ciclo estral es de 17 días, mientras en bovinos y caprinos es de 21 días. Las diferencias en los días del ciclo estral se deben a que la duración de la fase folicular es más prolongada en bovinos y caprinos (Downey, 1980). En la pubertad se inicia la actividad reproductiva, presentándose en esa etapa el primer estro, la cual se vuelve cíclica de ahí el nombre ciclo estral. Algunas especies animales exhiben ciclicidad estral de manera ininterrumpida a lo largo del año. A estas especies se les conoce como poliéstricas continuas (Forde et al., 2011). En cambio, aquellas especies que interrumpen su ciclo estral en ciertas épocas del año se les conoce como poliéstricas estacionales (Arroyo et al., 2007; Arroyo, 2011).

El ciclo estral se divide en fase folicular y fase lútea, ambas controladas hormonalmente por el eje hipotálamo-hipófisis-ovario (Forde et al., 2011). Cada fase del ciclo estral se subdivide a su vez en dos etapas; la fase folicular en proestro y estro, mientras que la fase lútea en metaestro y diestro. En general, la fase folicular se caracteriza por la presencia de una alta actividad de desarrollo folicular, la cual culmina con la formación de un folículo pre-ovulatorio y la subsecuente liberación del ovocito o comúnmente llamada ovulación. En esta última parte de la fase folicular, se presenta la etapa del estro, en donde las hembras se muestran receptivas a los machos (Downey,

1980). La duración del estro varía según la especie, siendo de 12 a 24 h, 48 a 72 h y 24 a 36 h en vacas, cerdas y ovejas, respectivamente (Arthur et al., 1991; Gordon, 2003). Posteriormente, con el término de los signos de estro y la presencia de la ovulación, se inicia la fase lútea, en la cual se da la formación del cuerpo lúteo y existen una serie de cambios uterinos que favorecen la presencia de un ambiente adecuado para una posible gestación (Forde et al., 2011). Cuando el óvulo no es fecundado, esta fase del ciclo estral tiene una duración entre 14 y 16 d, dependiendo de la especie.

Por otra parte, el ciclo estral se encuentra controlado endocrinológicamente por el eje hipotálamo-hipófisis-ovario. El hipotálamo secreta GnRH para estimular la hipófisis anterior para la liberación de hormona folículo estimulante (FSH) y LH. La FSH se encarga del desarrollo folicular, mientras que LH interviene en la parte final del desarrollo folicular y la ovulación (Forde et al., 2011). A nivel de ovario, específicamente en el folículo, días antes de la ovulación se incrementa la síntesis de estrógenos en las células de la granulosa, hormona que tiene como funciones producir retroalimentación negativa a nivel de hipotálamo para GnRH-FSH y también positiva para GnRH-LH, incrementar el número de receptores foliculares para LH y promover los signos de estro. La hormona inhibina también es sintetizada y secretada en las células de la granulosa, y actúa sobre hipófisis anterior inhibiendo la síntesis de FSH. De esta manera, se sincroniza la receptividad de la hembra al macho con la formación y liberación de un ovocito durante la fase folicular.

Posterior a la ovulación se da la formación del cuerpo lúteo e inicio de secreción de progesterona, la cual a nivel hipotálamo inhibe la secreción pulsátil de GnRH y consecuentemente bloquea la secreción pulsátil de LH en espera que se dé la fertilización del óvulo expulsado y se origine una gestación. En ausencia de un óvulo fecundado, los niveles de progesterona descienden y se inicia el proceso de *lisis* del cuerpo lúteo; entre los días 16 y 17 del ciclo estral en bovinos, y entre los días 11 y 13 en la oveja. La destrucción del cuerpo lúteo ó "*luteólisis*" es dependiente de la hormona prostaglandina ( $PGF_{2\alpha}$ ), la cual es sintetizada a nivel de útero. La  $PGF_{2\alpha}$  es producida por el endometrio uterino a partir del ácido graso araquidónico, y es secretada en forma tónica para que pueda ejercer una acción luteolítica sobre el cuerpo lúteo (Lenis et al., 2010). La activación de receptores en el cuerpo lúteo para  $PGF_{2\alpha}$  se

da por un aumento en los niveles de la hormona oxitocina, la cual a su vez está regulada por las concentraciones de estrógenos. De esta manera, con la lisis del cuerpo lúteo y la eliminación de la retroalimentación negativa de progesterona sobre GnRH hipotalámica, se da inicio a otro ciclo estral.

### **2.1.2. Ovulación y fecundación**

La ovulación en ovejas es un proceso espontáneo que no requiere de copulación como en otras especies de ovulación inducida. En ovejas ocurre alrededor de 24-36 h después del inicio del estro y en vacas entre 10-11 h después de un periodo de 18 h de estro. Una hormona crucial para dar inicio a la ovulación es el estradiol ovárico; dicha hormona actúa a nivel hipotálamo para inducir el pico preovulatorio de LH, lo cual ocurre entre 5-12 h después de haber iniciado el estro en ovinos (Atuesta y Gonella-Díaz, 2011). La ovulación es un proceso complejo al que le anteceden una serie de eventos como reactivación del crecimiento folicular, reanudación de meiosis en el ovocito, remodelación de células de la teca y granulosa y ruptura de la pared folicular.

La ovulación incluye un conjunto de eventos bioquímicos, morfológicos y fisiológicos que producen la liberación de un óvulo maduro a partir del folículo preovulatorio del estroma ovárico (Kiener, 2010). Como se ha mencionado, los cambios en la secreción endocrina de LH y estradiol marcan la pauta para que se produzca la ovulación (Duggavathi y Mulphy, 2009; Forde et al., 2011). De manera que a medida que el folículo dominante llega a su madurez, aumenta la secreción de estrógenos, logrando producir un “pico” que induce el estro y la aparición del “pico” de LH, seguido por la ovulación (Kiener, 2010; Russel y Robker, 2007).

La LH produce la cascada de eventos que promueven la ruptura folicular y la liberación del óvulo maduro durante la etapa del estro en ovejas. La ruptura folicular implica cambios asociados con la formación del estigma, la degradación y fisura de la pared folicular que permiten la liberación del óvulo. Para que se lleve a cabo la ruptura de la pared folicular, respuestas vasculares y celulares son promovidas por citoquinas, además de otros mediadores locales activados por todos los cambios hormonales que se han mencionado (Kiener, 2010; Kiener, 2010; Russel y Robker, 2007). Estos mediadores incluyen el sistema activador del plasminógeno/plasmina (AP), conformado

por enzimas del grupo de las serina-proteasas e integrada por dos activadores y dos inhibidores, asimismo, las metaloproteasas de matriz extracelular (MMP) y sus inhibidores (TIMPs) tienen participación en la degradación de la matriz extracelular del ápice de los folículos maduros, previo a la ruptura (Kiener, 2010; Kiener, 2010; Russel y Robker, 2007).

El óvulo liberado del folículo es captado por la fimbria y transportado al oviducto para permanecer temporalmente en la ampolla, porción oviductal donde ocurre la fecundación. Paralelamente, en el caso de haber ocurrido una copulación, los espermatozoides son transportados desde la vagina hasta la unión utero-tubal donde permanecen hasta la presencia del óvulo en el oviducto (Caravaca-Rodríguez et al., 2005). El espermatozoide, tras sufrir un proceso de maduración o capacitación durante su transporte del epidídimo a la ampolla, adquiere capacidad de fecundar al óvulo (Primakoff y Myles, 2007). Así, la fecundación se ha definido como una fase de la reproducción sexual en la cual el espermatozoide se une al óvulo para iniciar el desarrollo de un nuevo individuo (Wassarman et al., 2001; Caravaca-Rodríguez et al., 2005). La fusión entre los núcleos celulares del óvulo y el espermatozoide generan una célula diploide conocida como cigoto (Primakoff y Myles, 2002).

La fecundación no es un proceso sencillo, dado que el espermatozoide para lograr unirse al óvulo debe pasar por una serie de etapas que incluyen la fijación, la penetración y la fusión (Primakoff y Myles, 2002). Inicialmente, el espermatozoide tiene que hiperactivarse y modificar su acrosoma para garantizar un contacto rápido y firme con el óvulo en la región ampular del oviducto (Wassarman et al., 2001). Esto permite que el espermatozoide pueda traspasar la primera barrera formada por las células del cúmulo, donde la motilidad y la enzima hialuronidasa espermática son esenciales. Posteriormente, el espermatozoide se enfrentará a la segunda barrera llamada zona pelúcida (ZP) con el objeto de llegar al espacio vitelino (Wassarman y Litscher, 2008). La ZP se encuentra conformada por tres capas formadas por glicoproteínas (ZP1, ZP2 y ZP3), y es atravesada por el espermatozoide porque al contacto con ella se promueven reacciones enzimáticas que incitan exocitosis y liberación del contenido acrosomal (Primakoff y Myles, 2002, 2007; Rubinstein et al., 2006). En seguida se da la incorporación del espermatozoide al citoplasma del óvulo, posiblemente en respuesta a

fertilina, citrictina y otros componentes enzimáticos (Wassarman et al., 2001). El espermatozoide dentro del óvulo libera su material genético para ser fusionado con el ADN del óvulo, el cual previamente fue dividido por meiosis (Primakoff y Myles, 2002, 2007; Rubinstein et al., 2006). Posterior a la fusión de un esperma, la propia membrana en transformación a cigoto inhibe el potencial de fusión de otras células espermáticas, esto para evitar poliespermia (Primakoff y Myles, 2007). Una vez que ha ocurrido la fecundación inicia la fase gestacional, acompañado de cambios hormonales y fisiológicos maternos a fin de mantener el desarrollo del embrión-feto.

### **2.1.3. Gestación**

La gestación es el periodo comprendido entre la fecundación y la expulsión de un feto fisiológicamente maduro y con capacidad para sobrevivir fuera del útero (Hafez y Hafez, 2004). En ovinos, el largo de gestación es de 150 días en promedio, pero puede variar según la raza, edad, género, número de fetos, alimentación y otros factores (Carrillo et al., 1997). En términos generales, se distinguen dos etapas de desarrollo en la gestación de cualquier animal de la granja basado en el nivel de formación del producto: 1) embrionaria y 2) fetal (Caravaca-Rodríguez et al., 2005). A continuación se detalla cada una de las etapas

#### **2.1.3.1. Desarrollo embrionario**

El periodo embrionario abarca desde la formación del cigoto hasta que los órganos y tejidos ya están diferenciados. En ovejas tiene una duración aproximada de 30 días, aunque diferentes factores genéticos y ambientales pueden promover una ligera variación en el tiempo (Hafez y Hafez, 2004; Ali y Hayder, 2007; Aziz y Lazim, 2012). La formación de los embriones implica una serie de procesos de división y diferenciación celular, seguido de una serie de señales endócrinas y moleculares para el reconocimiento materno y la implantación del mismo en el endometrio uterino. También en la etapa final de este periodo embrionario, a través de la gastrulación del embrión, se comienza la formación de la placenta y la organogénesis (Caravaca-Rodríguez et al., 2005).

Posterior a la fecundación, el cigoto sufre segmentación por mitosis produciendo células hijas llamadas blastómeros, las cuales forman la mórula al alcanzar 16 blastómeros. La división celular sigue hasta que la masa de células indiferenciadas sufre un proceso de compactación y especialización celular dando origen al blastocito. En el blastocisto se diferencian dos grupos de células llamadas trofoectodermo y el embrioblasto (Rahman et al., 2008). Las células del trofoectodermo se ubican como la capa más externa y con la implantación darán origen a la placenta (Spencer et al., 2004; Satterfield et al., 2006), mientras que el embrioblasto son las capas de células más internas y durante la gastrulación se dividirá en tres capas germinativas (endodermo, mesodermo y ectodermo) que darán origen a cada uno de los órganos del embrión (Guillomot et al., 2004; Fletcher y Weber, 2013).

El reconocimiento materno de la gestación y la implantación son procesos vitales para garantizar la sobrevivencia y correcto desarrollo embrionario. El reconocimiento materno en ovinos se inicia entre los días 8 y 9 post-fecundación, justamente cuando el blastocito se encuentra en la luz uterina. El reconocimiento materno de la gestación consiste en una cascada de eventos hormonales, endocrinos y fisiológicos que envuelve el complejo embrión, cuerpo lúteo y endometrio materno para evitar que el embrión sea rechazado por la madre (Spencer et al., 2004). Por un lado, la progesterona mantiene un ambiente uterino adecuado para el establecimiento de la gestación y su mantenimiento (Satterfield et al., 2006). La progesterona inhibe la secreción de  $\text{PGF2}\alpha$ , por lo tanto la destrucción del cuerpo lúteo no ocurre. Esto se logra inhibiendo receptores de estrógenos y de oxitocina (Klein, 2006). Además, la progesterona al unirse con sus receptores en el endometrio activa la producción de mucina, y algunos genes que codifican proteínas de adhesión y otras proteínas requeridas para el crecimiento embrionario (Spencer et al., 2004; Satterfield et al., 2006). Por otra parte, el propio embrión envía una señal de su presencia a su madre, lo cual se logra a través de la proteína interferón ovina (oTP-1, bTP-1) producida por el trofoectodermo del blastocito (Spencer y Bazer, 2004). Estas proteínas establecen la intercomunicación embrión-madre, además de inhibir la síntesis de receptores endometriales de oxitocina, lo cual a su vez, impide la producción tónica de prostaglandinas y la luteólisis, lográndose de este modo, la producción permanente de

progesterona por el cuerpo lúteo y el mantenimiento de la gestación (Satterfield et al., 2006; Klein, 2006; Song et al., 2007). Cabe destacar, que la secreción de interferón se inicia alrededor del día 10 de gestación, alcanzando un pico entre los días 14 y 16, y culminando al día 21 (Song et al., 2007), siendo la elongación un proceso fundamental para su secreción (Spencer y Bazer, 2004; Spencer et al., 2004; Song et al., 2007). Aunado a la elongación, el contacto entre el trofoectodermo y el epitelio endometrial materno permite que el trofoblasto se fije al epitelio del lumen uterino, dando de esta manera el inicio de la implantación embrionaria (Spencer et al., 2004). En general, el reconocimiento materno de la gestación e la implantación culminan al día 16 de gestación, momento en que se inicia la fijación y formación de la placenta (Spencer et al., 2004; Satterfield et al., 2006), así mismo se inicia la gastrulación y posterior organogénesis. La placenta es el órgano que proveerá nutrientes, oxígeno y agua al feto (Mellor, 1983). Cabe destacar que previo al contacto del trofoectodermo y el epitelio uterino, el vitelo y algunas secreciones uterinas son utilizadas como nutrientes para las divisiones y el crecimiento celular embrionario (Caravaca-Rodríguez et al., 2005).

### **2.1.3.2. Desarrollo fetal**

Los órganos y sistemas se forman durante el periodo de organogénesis. Una vez culminado este proceso y que las estructuras corporales comienzan a crecer, el embrión toma el nombre de feto. Cabe mencionar que durante este periodo de transición no se puede diferenciar el feto del embrión, ya que no existe ningún hecho que los separe netamente, aunque el feto ya se asemeja a la forma adulta de su especie (Caravaca-Rodríguez et al., 2005).

La trayectoria del crecimiento fetal varía con el momento de la gestación. De tal manera que durante los primeros dos tercios de gestación el crecimiento fetal alcanza solo el 20%, y durante el último tercio se da el 80% restante (King, 2002). Lo anterior se debe a que en el primer tercio de gestación lo primordial es el establecimiento placentario y el escaso sustrato nutricional circulante difícilmente podría soportar un rápido crecimiento fetal (Osgerby et al., 2004; Gootwine et al., 2007). Sin embargo, la placenta en el último tercio ya es completamente funcional para proveer mayor cantidad de nutrientes al feto y soportar un crecimiento fetal acelerado (Freetly y Leymaster,

2004; Gursel et al., 2010), siendo glucosa el principal nutriente que facilita la energía necesaria para soportar tanto el metabolismo fetal como el materno en la gestación (Mellor y Murray, 1985; Osgerby et al., 2002).

La nutrición fetal es clave en el desarrollo gestacional, y los nutrientes (carbohidratos, lípidos y aminoácidos) que utiliza el feto provienen de la circulación maternal o pueden ser sintetizados internamente conforme los órganos van adquiriendo madurez fisiológica (Brett et al., 2014). En general, el transporte de nutrientes y metabolitos de la circulación materna al feto es a través de la placenta mediante difusión pasiva, facilitada y transporte activo (Hafez y Hafez, 2004, Brett et al., 2014). La difusión facilitada responde a los gradientes de concentración de ambos lados de la placenta. En cambio, el transporte activo depende de la expresión de proteínas transportadoras específicas. Cabe destacar que la difusión pasiva depende del área de intercambio, el flujo sanguíneo y tamaño de la molécula, siendo el flujo sanguíneo útero placentario el factor más importante (Mellor, 1983). Por difusión pasiva se transporta oxígeno, dióxido de carbono y urea, así mismo cloro, sodio, potasio, yodo, hierro y fosforo (Shennan y Boyd, 1987).

La glucosa materna, nutriente esencial para el feto, es transferida por transporte activo a la placenta usando el transportador GLUT-3 y de la placenta a la circulación fetal por el transportador GLUT-1 (Baumann et al., 2002). También la glucosa materna puede ser transportada al feto a través de difusión facilitada (Hay y Mezmarich, 1989). Además, el hígado y los riñones del feto sintetizan pequeñas cantidades de glucosa a partir de aminoácidos gluconeogénicos (Wu et al., 2012). La glucosa es fuente de energía en forma de ATP para las células rojas y proporciona NADPH a través del ciclo de las pentosas (Wu et al., 2012).

Los lípidos son parte importante en la nutrición y metabolismo fetal, particularmente a nivel de hígado, musculo esquelético y corazón donde los lípidos son usados como combustible metabólico. Aunque cabe mencionar que los ácidos grasos de cadena larga son de gran importancia en el metabolismo celular del feto y desarrollo de órganos (Wu et al., 2012). Mientras que la mayoría de ácidos grasos de cadena larga cruzan la barrera placentaria, algunos pueden sintetizarse a partir del Acetil-CoA producto de la oxidación de la glucosa en el feto (Wu et al., 2006). El tejido fetal es

capaz de sintetizar el ácido oleico ( $\omega 9$ ), el cual pertenece a la familia de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA). Sin embargo, no puede sintetizar los ácidos linoleico ( $\omega 6$ ) y  $\alpha$ -linoleico ( $\omega 3$ ), también ácidos grasos de cadena larga pertenecientes a las PUFA's (Wang et al., 2012). Los ácidos grasos  $\omega 6$  y  $\omega 3$  confieren fluidez, permeabilidad y conformación a la membrana celular dentro del feto (Wu et al., 2012). Además, son precursores de componentes bioactivos como las prostaglandinas (Wang et al., 2012), factor que resulta ser un vasodilatador para la circulación pulmonar (D'cunha y Sankaran, 2001). Otra PUFA con importante relevancia en el desarrollo fetal es el ácido decosaheptaenoico (DHA), el cual modula la apropiada mielinización neuronal y la diferenciación de las células madre neurales a neuronas, así como también promueve el desarrollo del cerebro, nervios, fotorreceptores de la retina y el sistema inmunológico en el feto (Wu et al., 2012). Cabe destacar que las PUFA's, particularmente el ácido araquidónico, el DHA y sus precursores ( $\omega 6$  y  $\omega 3$ ) son esenciales para el óptimo desarrollo sensorial de diferentes órganos en el feto (Valenzuela y Nieto, 2001; Capper et al., 2005).

Otro nutriente importante son los aminoácidos, que además de ser la materia prima para la formación de proteínas, son utilizados para la formación de moléculas fisiológicamente importantes, incluyendo hormonas, neurotransmisores, creatina, glutatión y poliaminas (Wu et al., 2009). Los aminoácidos a través de múltiples vías de señalización celular, regulan el metabolismo, el crecimiento y el desarrollo en el feto (Wu et al., 2012). Los transportadores de aminoácidos incluyen L-alanina, L-prolina, L-glicina, L-serina (Sistema A), L-aurina (TAUT), L-lisina ( $y+$  e  $y+L$ ) y L-leucina (L e  $y+L$ ), así como, los intercambiadores de  $Na^+/H^+$ , la bomba  $Na^+/K^+$  ATPasa y la enzima lipasa de lipoproteínas (Regnault et al., 2005; Brett et al., 2014).

Hasta hace algunos años, la mayoría de estudios indicaban que las alteraciones nutricionales tenían un mayor impacto en el último tercio de gestación, dado que era cuando se presentaba el crecimiento exponencial de los fetos, y por consecuencia, las demandas nutricionales incrementaban (Oliver et al., 2005; Bloomfield et al., 2006). Sin embargo, en años recientes, se ha manifestado que la nutrición materna durante el periodo periconcepcional o gestación temprana no es menos importante que la nutrición otorgada a ovejas durante el último tercio de gestación (Bloomfield, 2011; Mossa et al.,

2015; Velazquez, 2015). Esto contradice lo indicado por Bell (1995), quien reportó que debido al bajo desarrollo fetal registrado en los primeros dos tercios de gestación (20%), el impacto de una nutrición inadecuada en estas etapas de la gestación tenía poca relevancia. La inadecuada alimentación pre-concepción y primer tercio de gestación puede provocar problemas de alteraciones epigenéticas, y en general, de programación fetal. Por lo tanto, los fetos productos de ovejas sujetas a una alimentación inadecuada en la periconcepción o gestación temprana, son fisiológicamente susceptibles a los cambios no programados, lo cual afecta su potencial biológico en la gestación tardía, o en su misma vida postnatal (Oliver et al., 2005; Rumball et al., 2009).

## **2.2. Comportamiento reproductivo en ovinos de pelo**

### **2.2.1. Generalidades**

Las razas ovinas de pelo en el mundo descienden de cruzamientos entre razas originarias del continente Africano (Avendaño-Reyes et al., 2004; Hinojosa-Cuellar, 2011). En el continente de América, los ovinos de pelo se encuentra distribuidos prácticamente en todas las regiones, no obstante, la mayor población de estos ovinos se ubica en las regiones tropicales (Wildeous, 1997; Catunda et al., 2013; Hinojosa-Cuellar et al., 2015). En México, las razas ovinas de pelo que predominan son Pelibuey, Blackbelly, Katahdin y Dorper (Hinojosa-Cuellar et al., 2015; Sánchez-Dávila et al., 2015), además de un grupo de ovinos de pelo denominados como criollos (Arroyo et al., 2016). En los Estados Unidos predominan las razas Santa Cruz, Katahdin, Blackbelly, Dorper Blanco y Dorper Cabeza Negra (Wildeous, 1997). En otras regiones como el Caribe y Sudamérica prevalecen las razas West African, Persa Cabeza Negra, Morada Nova y Santa Inés, principalmente (Cambellas, 1993; Catunda et al., 2013).

Actualmente, se considera que entre el 60 y 70% de la población ovina prevaleciente en regiones tropicales, áridas y semiáridas, es de raza o cruza de pelo (Catunda et al., 2013). Esta tendencia obedece a la habilidad que tienen los ovinos de pelo para adaptarse a climas extremos y a escasez de forraje, así como por ser resistentes a parásitos y aprovechar esquilmos agrícolas en forma eficiente (Avendaño-Reyes et al., 2004). Adicionalmente, se caracterizan por tener alta habilidad materna y

rusticidad, lo cual les permite procrearse y sobrevivir en condiciones de pastoreo extensivo como en sistemas tecnificados (Avendaño-Reyes et al., 2004, Macías-Cruz et al., 2012). Una característica que posiblemente ha sido la más trascendental para que los ovinocultores comenzaran a sustituir parcialmente las razas de lana por raza de pelo, ha sido la capacidad de estas últimas reproducirse prácticamente todo el año.

Los ovinos de pelo han mostrado reducida estacionalidad reproductiva, inclusive en algunas ovejas el anestro estacional es nulo, al menos a una latitud norte  $<35^{\circ}$  (Gastelum-Delgado et al., 2015; Macías-Cruz et al., 2015). Lo anterior se ha demostrado ampliamente en diversos estudios, donde los investigadores evaluaron la actividad estral, folicular y ovulatoria en ovinos de raza Pelibuey durante la época de anestro o a través del año bajo diferentes latitudes y climas del territorio Mexicano (Valencia et al., 2006; Rodríguez et al., 2007; Gastelum-Delgado et al., 2015; Macías-Cruz et al., 2015; Arroyo et al., 2016). Esos estudios reportaron una reducción (20 y 40%) en el porcentaje de ovejas Pelibuey en estro y ovulando entre los meses de febrero a mayo. Otras particularidades reproductivas observadas en estas ovejas de pelo, es que existía un grupo de ovejas con ciclos estrales continuos a través del año, y aquellas que presentaban anestro, éste no duraba más allá de dos meses (Arroyo et al., 2007; Gastelum-Delgado et al., 2015).

Si bien, la estacionalidad reproductiva en ovinos de pelo no es muy marcada, existe una disminución en algunos parámetros reproductivos cuando las montas ocurren fuera de la época reproductiva natural (Burke, 2005; González-Godínez et al., 2014). En particular, la fertilidad y la prolificidad disminuyen cuando las montas ocurren en la época de baja actividad reproductiva (Martínez-Rogero et al., 2011; González-Godínez et al., 2014). Esto explica parcialmente la alta variación que existe en los parámetros reproductivos dentro de una misma raza. A pesar que los parámetros reproductivos tienden a disminuir en ciertas épocas del año, lo interesante de este grupo de ovinos es su capacidad de reproducirse en todo el año, teniendo partos en diferentes épocas y bajo distintas condiciones climáticas (González-Garduño et al., 2010; Hinojosa-Cuellar y Oliva-Hernández, 2009). Cabe remarcar que, en algunos casos particulares, la raza Pelibuey ha mostrado altos porcentajes de pariciones aun cuando las montas se han realizado en primavera-verano u otoño-invierno (Macedo y

Alvarado, 2005). En este sentido, bajo esquemas adecuados de reproducción se puede producir corderos durante todo el año usando ovejas de pelo.

### **2.2.2. Parámetros reproductivos**

Con el objetivo de producir corderos para abasto, en México los ovinos de pelo han mostrado capacidad de generar una producción relativamente constante de carne a través del año (Macías-Cruz et al., 2012). Lo anterior es el reflejo del potencial biológico de este grupo racial, alta habilidad de la oveja para quedar gestante y, además el número de crías que logran gestar exitosamente hasta el parto es considerablemente alto en comparación con los ovinos de lana (Notter, 2000; Burke, 2005; Wildeous, 2005). Algunos de los parámetros utilizados para evaluar la eficiencia reproductiva en la oveja son: porcentaje de gestación, fertilidad, prolificidad, fecundidad, y porcentaje de partos simples y dobles. El porcentaje de gestación para ovinos de pelo en condiciones extensivas es aproximadamente 85%, pero pueden llegar a tener valores de 80 a 90% (Cambellas, 1993, Gavojdian et al., 2015). En la fertilidad, algunos estudios indican valores entre 80 y 85% (Wildeous et al., 1997; Gonzalez-Garduño et al., 2010).

Aunado a lo anterior, los ovinos de pelo tienen una prolificidad elevada. Su promedio de prolificidad es de 1.6 crías por oveja parida, aunque esta característica presenta mucha variación, tomando valores de 1.15 a 2.12 (Notter, 2000, Avendaño-Reyes et al., 2004, Macías-Cruz et al., 2009, Wildeous et al., 2012, Magaña-Monforte et al., 2013, González-Godínez et al., 2014, Hinojosa-Cuellar et al., 2015). Cabe destacar que los ovinos de pelo presentan alto (>60%) porcentaje de partos gemelares (Combellas, 1980; Cambellas, 1993). Asimismo, se ha reportado un valor alto ( $\geq 90\%$ ) en fecundidad (Gonzales-Garduño et al., 2010, González-Godínez et al., 2014). La productividad de la oveja de pelo al parto es excelente, por lo que si el objetivo es producir corderos, este grupo racial es idóneo para la ganadería ovina.

Cabe destacar que la eficiencia reproductiva y productiva de la oveja es mediada por distintos factores entre las cuales los genéticos, ambientales y nutricionales resultan ser los más relevantes. Por ejemplo, las razas Dorper productora de carne presenta una prolificidad de 1.2 a 1.4 corderos por parto (González-Godínez et al., 2014; Gavojdian et al., 2015), mientras que las razas Katahdin, Pelibuey o Santa Cruz, razas que tienen

elevada habilidad materna presentan una prolificidad entre 1.6 y 2.1 (Segura-Correa et al., 1996; Andrade-Montoya, 2010, Sánchez-Dávila et al., 2015). Entre los factores ambientales, las altas temperaturas típicas de la primavera-verano, promueven menores tasas de ovulación e incrementan las muertes embrionarias a consecuencia del estrés por calor y contribuyeron a disminuir la prolificidad, la fecundidad y los porcentajes de preñez en razas Dorper y Katahdin (Burke, 2005). Aunado a ello, el factor nutricional puede ocasionar problemas metabólicos, y consecuentemente fallas reproductivas en ovejas de pelo, no obstante la información es escasa al respecto.

### **2.2.3. Sincronización del estro**

A pesar que los ovinos de pelo muestran relativamente mejores parámetros reproductivos que los ovinos productores de lana, el uso de la biotecnología reproductiva se ha convertido en una estrategia productiva para incrementar la productividad de los rebaños, así como para realizar mejoramiento genético a través de la incorporación de semen o embriones de individuos de mayor potencial genético (Avendaño-Reyes et al., 2007; Alexander et al., 2010; Macías-Cruz et al., 2012). Los protocolos de sincronización del estro han sido la herramienta reproductiva con más popularidad entre los ovinocultores para incrementar la fertilidad y prolificidad de las ovejas de pelo. Además, que ha permitido a los productores agrupar las épocas de parto cuando las condiciones ambientales y nutricionales son las más adecuadas (Abecia et al., 2011; Santos et al., 2011). También, a través de los protocolos de sincronización se ha podido realizar una programación de las actividades de manejo del rebaño y atención de partos.

El protocolo de sincronización de estro más empleado en ovinos consiste en un tratamiento hormonal combinando progestágenos con PMSG. Un dispositivo impregnado de progesterona es colocado intravaginalmente por 10 o 12 días, y 24 h o al momento del retiro del dispositivo, se aplica intramuscular 400 UI de PMSG (Godfrey et al., 1999; Wildeus, 2000; Abecia et al., 2011). Sin embargo, en años recientes este protocolo ha sufrido algunas modificaciones, tales como menor tiempo del dispositivo (Viñoles et al., 2001; Menchaca y Rubianes 2007) o dosis más bajas de PMSG (Macías-Cruz et al., 2013). El progestágeno ayuda a extender la fase lútea del ciclo

estral para garantizar que aquellas ovejas que no están en fase lútea tengan el tiempo suficiente para alcanzarla, de tal manera que al finalizar el protocolo todas las ovejas están en fase lútea aparente. La PMSG es una hormona que favorece el desarrollo folicular y una mayor tasa ovulatoria, a través de actuar principalmente como FSH y en segundo término como LH (Wildeus, 2000).

A continuación se describen algunos resultados de estudios donde ovejas de pelo han sido tratadas con protocolos de sincronización de estro con progestágenos y PMSG. En ovejas Pelibuey sincronizadas con esponjas impregnadas con progestágenos y 500 UI de PMSG bajo condiciones de estrés calórico, Avendaño-Reyes et al. (2007) reportaron 100% de ovejas en estro con una prolificidad de 2.5 crías por ovejas paridas, sin embargo, la fertilidad fue baja (55%). En ese estudio se observaron diferencias en fertilidad y prolificidad debido a raza de semental, se recomendó empadrar con machos Dorper (65% de fertilidad y 2.6 crías/oveja parida) y no con machos Pelibuey y Katahdin. Aunque en un estudio realizado por Macías-Cruz et al. (2009) no encontraron diferencias en respuesta a estro (100%), fertilidad (88%), fecundidad (186%), prolificidad (2.1 crías/oveja parida) y porcentajes de partos múltiples (88%) y sencillos (22%) por efecto de raza de semental en ovejas Pelibuey sincronizadas con progestágenos y 300 UI de PMSG en condiciones termoneutrales. Macías-Cruz et al. (2012) encontraron 90% de fertilidad y 2.0 crías/oveja parida en ovejas Pelibuey sincronizadas con progestágenos y 250 UI de PMSG 48 h antes del retiro. En otro estudio donde probaron cuatro dosis (0, 100, 200 y 400 UI) y tres tiempos (0, 24 y 48 h antes de remover la esponja) de aplicación de PMSG usando ovejas Pelibuey y Blackbelly, se observó que la dosis de PMSG tuvo un efecto directo sobre la concentración del estro, tasa de ovulación, fertilidad, prolificidad y fecundidad; mientras que tiempo de aplicación de PMSG en relación al retiro de la esponja resultó ser importante sobre el grado de sincronización de estro (Quintero-Elisea et al., 2011). En ese estudio concluyeron que una dosis de 400 UI de PMSG aplicada 24 h antes del retiro de la esponja era el mejor protocolo a seguir para obtener un mejor estro sincronizado, con una mayor tasa de concepción y cantidad de crías nacidas por oveja parida. Recientemente, González-Reyna et al. (2014) informaron que la dosis de PMSG y la raza de la hembra jugaban un rol importante en el éxito del protocolo de

sincronización en ovinos de raza de pelo, pero no la condición corporal o la edad de la oveja. En general, los resultados de estos estudios demuestran que en ovejas de raza de pelo, los resultados de la eficiencia de un protocolo de sincronización medido en base a los parámetros reproductivos puede variar debido a cuestiones intrínsecas del protocolo, así como por la raza y las condiciones ambientales.

El aspecto nutricional también ha sido relacionado con variaciones en el éxito de los protocolos de sincronización de estro, aunque en ovejas de pelo no se ha evaluado hasta el momento. En ovejas de razas de lana, algunos estudios demostraron que la subalimentación o sobrealimentación alrededor de la monta puede alterar el desarrollo folicular y la síntesis de estrógenos, lo cual se refleja en ausencia de estro o presencia de estros muy cortos anovulatorios (Sosa et al., 2010; Sejian et al., 2010b). También se ha documentado ampliamente que la desnutrición estimula, mientras que la sobrealimentación reduce la cantidad de progesterona circulante en sangre (Lozano et al., 1998), lo que se atribuye a un incorrecto funcionamiento del tejido hepático para degradar las hormonas esteroidales (Boland et al., 2001). También se ha encontrado que la cantidad de receptores endometriales para progesterona disminuyen con la desnutrición de la oveja (Sosa et al., 2006). Esta alteración en los niveles circulante de progesterona y receptores endometriales promueven cambios en el desarrollo del embrión y ambiente uterino que pueden llevar a la muerte embrionaria temprana (Spencer et al., 2004). Así, el éxito de los protocolos de sincronización de estro basado en progestágenos y PMSG puede verse mermados, desde la respuesta a estro hasta la fertilidad y prolificidad.

### **2.3. Reproducción y balance energético**

La reproducción animal responde a señales ambientales para su modulación, siendo las principales el fotoperiodo, la nutrición y la interacción social entre los animales (Scaramuzzi y Martin, 2008). El estado nutricional juega un rol clave para que un animal pueda lograr sincronizar todos los eventos reproductivos en tiempo y forma, lo cual permite una correcta capacidad reproductiva de machos y hembras. Una alimentación inadecuada puede llevar al animal a realizar ajustes fisiológicos, metabólicos y endocrinológicos para alcanzar una homeostasis bajo un nuevo

escenario nutricional, sin embargo, todos estos ajustes no necesariamente van de acuerdo para también mantener un funcionamiento correcto en la reproducción. Así, la nutrición controla eventos reproductivos que van desde pubertad hasta producción de gametos, incluyendo el término programación fetal, gestación y lactancia (Martin et al., 2004).

La vía principal a través de la cual la nutrición modula el comportamiento reproductivo en los animales es el balance energético (Scaramuzzi et al., 2006). Considerando que la reproducción es un evento secundario en la mayoría de los animales, dependiendo del estado del balance energético será el tipo de señales neurales, metabólicas y endocrinas enviadas a los centros hipotalámicos, y en consecuencia se reflejará en la activación o desactivación del sistema reproductivo (Keisler y Lucy, 1996). El balance energético positivo se presenta cuando los requerimientos nutricionales son cubiertos adecuadamente, permitiéndole al animal enviar los ligeros excesos de energía a las reservas corporales (glucógeno, triglicéridos) o bien, disiparlas en forma de calor metabólico. El balance energético negativo se presenta cuando los requerimientos nutricionales de los animales exceden a la cantidad de nutrientes consumidos, de tal manera que para cubrir sus necesidades energéticas, el animal se ve obligado a movilizar las reservas corporales (Scaramuzzi et al., 2006).

En animales donde el balance energético es adecuado, la homeostasis y el correcto funcionamiento reproductivo se alcanza a través de una interacción armónica entre el cerebro, el centro del apetito, los centros neuroendocrinos situados en la base del cerebro (hipotálamo, hipófisis, pineal y otros) y los tejidos de células blanco (Scaramuzzi et al., 2006). Así, una nutrición equilibrada permite que las concentraciones de hormonas reproductivas (LH, FSH, estradiol y progesterona), hormonas metabólicas (leptina, insulina), factores de crecimiento (GH e IGF-1) y metabolitos sanguíneos (glucosa, triglicéridos y colesterol) se conserven en rangos adecuados, y estos a su vez, favorezcan su intervención estable en los procesos reproductivos, tales como gametogénesis, sobrevivencia embrionaria, desarrollo placentario y fetal, programación fetal, producción de calostro y leche y desarrollo prepuberal (Martin et al., 2004; Gonzalez-Bulnes et al., 2011).

En el caso de animales con balance energético negativo se hace evidente la baja cantidad de grasa de cobertura y la presencia de huesos muy prominentes, lo cual es producto de la movilización de las reservas corporales (Russel et al., 1969; Landau y Molle, 1997; NRC, 2007). Esto se logra a través de adaptaciones metabólicas para cubrir las deficiencias nutricionales de las reservas del cuerpo. En primera instancia, se movilizan las reservas de grasa (colesterol, triglicéridos) y, en casos de restricción alimenticia prolongada, también el tejido muscular (McDonald y Greenhalgh, 1999). Consecuentemente, animales con balance energético negativo presentan pérdidas de peso vivo y condición corporal como reflejo de la movilización de grasa corporal y masa muscular (Scaramuzzi et al., 2006, Sejian et al., 2010b, Robertson et al., 2015). A nivel metabólico se observan condiciones de hipoinsulinemia, hipoglucemia, y elevados niveles de  $\beta$ -Hidroxiacetato ( $\beta$ OH) y de ácidos grasos no esterificados (Harmeyer y Schlumbohm, 2006; Scaramuzzi et al., 2006).

Por otra parte, más que la evaluación del peso vivo del animal, la condición corporal resulta ser un mejor parámetro a medir para determinar el estado corporal del animal y, por consecuencia, el balance energético en que se encuentra (Russel et al., 2006). La condición corporal ha sido ampliamente relacionada con las tasas de ovulación, fertilidad, prolificidad y con los pesos de las crías al nacimiento (Abecia et al., 2006b; Sejian et al., 2010a). Lo anterior se debe a que dicho parámetro se relaciona directamente con el estado energético o nutricional de los animales, de tal manera que la condición corporal es una forma práctica de visualizar o estimar el estado metabólico de los animales (Landau y Molle, 1997). Una forma de determinar la condición corporal es a través de una técnica subjetiva propuesta por Russel et al. (1969), donde a través de palpación de la región lumbar y la grupa, ya sea con una o con ambas manos, se establece una aproximación de la cantidad de músculo y grasa subcutánea entre las vértebras. La escala de medición es de 1, 2, 3, 4 y 5 para animales muy flacos, ligeramente flacos, en buena condición, ligeramente gordos y gordos, respectivamente.

Conocer el estado nutricional en las ovejas resulta importante, dado que el costo energético para la reproducción es alto. Particularmente, en las ovejas que, además de producir los gametos, entran a un estado gestacional donde la demanda de nutrientes para desarrollo embrionario-fetal, síntesis de calostro y labor de parto es considerable

(Martin et al., 2004). Además, la producción de leche en el periodo postparto es sumamente demandante de energía y de otros nutrientes.

## **2.4. Restricción nutricional periconcepcional**

### **2.4.1. Efectos en la actividad estral**

Algunos estudios han indicado que un inadecuado consumo de energía antes de la monta afecta la ganancia de peso en las ovejas, lo cual a su vez, retrasa el inicio de aparición del estro y reduce el porcentaje de estro (Mani et al., 1992; Koyuncu y Canbolat, 2009; Navqui et al., 2013). Contrariamente, otros estudios reportan que la restricción de nutrientes antes de la monta incrementa el porcentaje de estro, pero reduce su duración (Sejian et al., 2012, 2014). En forma similar, Aké-López et al. (2013) reportaron que ovejas Pelibuey con baja condición corporal redujeron la duración del estro, lo cual redujo la posibilidad de ser detectadas en celo y servidas por el macho. En este último estudio también encontraron que la funcionalidad del cuerpo lúteo fue menor en ovejas con condición corporal baja. En contraste, otros estudios sugieren que la desnutrición antes de la monta no afecta el inicio del estro, ni la tasa de ovulación (Sosa et al., 2010). Sin embargo, los efectos de la restricción nutricional sobre la conducta de estro pueden ser dependientes de la duración e intensidad de la restricción nutricional.

Las alteraciones en conducta de estro en ovejas desnutridas se deben a una baja síntesis de estradiol 17- $\beta$  como consecuencia de fallas en el proceso de foliculogénesis (Kiyama et al., 2004; Sejian et al., 2014). Cuando una oveja se encuentra en balance energético negativo, el eje reproductivo se altera a nivel hipotálamo-hipófisis, disminuyendo o suprimiendo los pulsos de GnRH (Scaramuzzi et al., 2006). Así, la restricción energética suprime el incremento de la secreción pulsátil de FSH y LH, hormonas necesarias para el crecimiento del folículo al estado preovulatorio (Landau y Molle, 1997). Por lo tanto, la disminución en el crecimiento de folículos, así como en la cantidad de células de la granulosa que tienen los folículos dominantes por efecto de la desnutrición, explican la menor síntesis de estrógenos, hormona encargada de estimular la presencia de los signos de estro y el pico pre-ovulatorio de LH para la ovulación (Makey et al., 1999).

Kiyama et al. (2004) reportó que la reducción en la concentración de estrógenos es el resultado de una foliculogénesis disminuida en respuesta a una supresión de concentración de gonadotropinas. De tal manera que, cuando los niveles de gonadotropinas no son los adecuados, existen fallas en la foliculogénesis, y por ende, en la producción de estradiol y la presencia del estro. Además, la desnutrición reduce la secreción de hormonas metabólicas como leptina, la cual afecta la maduración folicular y ovulación (Scaramuzzi et al., 2006).

#### **2.4.2. Efectos en el desarrollo embrionario**

La nutrición materna durante la gestación tiene importantes implicaciones metabólicas en la madre, las cuales pueden comprometer el desarrollo embrionario y fetal, así como su bienestar durante y después del periodo gestacional. Las alteraciones en las etapas de desarrollo embrionario temprano resultan muy específicas y desencadenan baja productividad después del parto (Rosiles et al., 1995). La restricción nutricional puede modificar concentraciones de progesterona y estradiol circulantes a nivel periférico y endometrial, afectando tanto el reconocimiento materno como la implantación (Rhind et al., 1989). Además, señales metabólicas y hormonales pueden ser modificadas e influir sobre el desarrollo embrionario temprano, afectando la programación fetal (Pisani et al., 2008).

Algunos estudios indican que las concentraciones de progesterona y estradiol disminuyen en el endometrio pero incrementan a nivel periférico (Abecia et al., 2006a, Sosa et al., 2006). La mayor cantidad de progesterona y estradiol en sangre periférica se relaciona con un flujo sanguíneo bajo en hígado, lugar donde se degradan las hormonas esteroidales (Parr et al., 1993). De hecho, se ha documentado que existe una relación inversa entre consumo de alimento y niveles circulantes de estas hormonas esteroideas en la sangre (Lozano et al., 1998). También, Boland et al. (2001) mencionan que las hormonas esteroidales se almacenan selectivamente en el tejido graso, de tal manera que cuando hay movilización de reservas corporales, las concentraciones de estas hormonas tienden a aumentar.

Por otra parte, la expresión de receptores endometriales para progesterona y estradiol es reducida en ovejas subalimentadas en el periodo alrededor de la

concepción (Sosa et al., 2006). Así, las alteraciones en las concentraciones de hormonas esteroidales en combinación con la baja expresión de receptores endometriales para ellas, se ha ligado a cambios en el ambiente uterino que no son apropiados para un adecuado desarrollo embrionario. En útero de ovejas desnutridas se ha reportado baja expresión de proteínas de adhesión y factores de crecimiento, las cuales juegan un papel importante en la implantación embrionaria (Lawson y Cahill, 1983; Rhind et al., 1989; Wu et al., 2006). Cabe destacar que para que ocurra el reconocimiento materno, del embrión, este envía una señal de su presencia al endometrio, pero en condiciones de restricción nutricional, dicha señal (interferón ovis) se suprime, reduciendo la sobrevivencia embrionaria (Abecia et al., 2006a). Así, todos estos eventos ocasionan fallas en el establecimiento de gestación (Sosa et al., 2006).

En un estudio en el cual se restringió nutricionalmente a un grupo de ovejas por dos semanas antes de la concepción mientras que otro grupo se mantuvo como testigo, se observó una reducida tasa ovulatoria y desarrollo embrionario deficiente, debido a la falta de nutrientes (Rhind et al., 1989). Rumball et al. (2008) reportaron que los efectos negativos sobre el desarrollo embrionario por efecto de desnutrición se debían, posiblemente, a alteraciones endócrinas y metabólicas vinculadas con la expresión de genes durante el periodo de la implantación. La restricción de energía promueve cambios en los niveles de ARNm, tanto en el ovocito como en las células adyacentes (Pisani et al., 2008). Además, reduce la expresión de algunos genes relacionados con la actividad metabólica del ovocito, tales como los genes SLC2A3 y Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPasa, los cuales son transportadores de glucosa (Pisani et al., 2008). Si la glucosa es deficiente, se puede comprometer la habilidad del ovocito para alcanzar la metafase II y expulsión del primer cuerpo polar. Por otro lado, la restricción del consumo de alimento induce una reducción del transportador Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPasa, complejo encargado del transporte de glúcidos y aminoácidos a la célula (Augustin et al., 2001). En ausencia de este transportador se inhibe la competencia del ovocito, además de afectar la formación de los blastocitos (Leoni *et al.*, 2007).

Cabe destacar que la restricción nutricional alrededor de la concepción puede originar alteraciones en la expresión de genes y modificaciones en la secuenciación de los mismos. Durante el desarrollo embrionario temprano, particularmente entre el

estado de cigoto a mórula, existe una alta reprogramación epigenética del genoma, en el cual se incluyen tanto pérdidas como metilación del ADN, así como modificaciones en las histonas (Bloomfield et al., 2015).

### **2.4.3. Efectos en el desarrollo fetal y vida postnatal**

La restricción de nutrientes durante la preñez induce reducción en los niveles plasmáticos de glucosa, metabolito que en ovejas gestantes es el principal factor predisponente del retardo en el crecimiento fetal (Bell y Bauman, 1997). Esto considerando que la glucosa es el aporte de energía más importante para el desarrollo fetal. Además, la disminución de glucosa en plasma sanguíneo implica otras alteraciones metabólicas como cambios en concentraciones de factores de crecimiento insulínico (IGF, Gallaher et al., 1998).

El IGF-1 es una hormona metabólica que disminuye en la circulación útero-placentaria en respuesta a la reducción de glucosa (Gallaher et al., 1998). La disminución del IGF-1 reduce el suministro de nutrientes útero-fetales, además de provocar cambios en el metabolismo fetal (Osgerby et al., 2002). Así, se ha reportado que la trayectoria del crecimiento fetal puede modificarse por alterar los sistemas de hormona del crecimiento-IGF-1 y glucosa-insulina como resultado de la restricción nutricional en la gestación temprana (Bloomfield et al., 2006). Muñoz et al. (2008) reportaron que la subalimentación al 40% de los requerimientos nutricionales durante los primeros 39 días después del servicio, redujo el diámetro craneal y abdominal de los corderos al día 57 de preñez. Por otro lado, se ha encontrado que la restricción de nutrientes alrededor de la concepción puede afectar el desarrollo de la placenta, incrementando la vascularidad en los cotiledones (Osgerby et al., 2003, 2004). Sin embargo, dichas modificaciones no son suficientes para evitar la disminución del peso al nacimiento de los corderos (Reynolds y Redmer, 2001).

Cabe destacar que los corderos nacidos de ovejas que fueron nutricionalmente restringidas en alguna etapa de su gestación tienen bajo instinto de sobrevivencia, lenta tasa de crecimiento pre-destete, incapacidad para regular su temperatura corporal y afectaciones neurológicas (Wu et al., 2006). El panorama de restricción nutricional alrededor de la concepción puede volverse crítico en una gestación multifetal (Caton y

Hess, 2010). Esto debido a que, naturalmente, la suministración de nutrientes por feto se reduce conforme el tamaño de camada incrementa, lo cual puede condicionar el crecimiento fetal y, por lo tanto, los pesos al nacimiento (Gardner et al., 2007). Algunos estudios reportan que la restricción nutricional en la gestación temprana fue más perjudicial para gestaciones con varios fetos comparado con gestaciones de un solo feto (Bloomfield et al., 2006). Jaquier et al. (2011), al evaluar el efecto combinado de la restricción nutricional y gestación gemelar sobre el comportamiento posnatal de las crías, encontraron que el peso al nacimiento y tasas de crecimiento de los corderos fueron afectados por la interacción entre los factores de estudio.

Finalmente, en ovinos así como en otros mamíferos, los efectos detrimentales de la subalimentación alrededor de la concepción no se limitan al desarrollo embrionario y fetal, sino que las crías en su vida postnatal tiende a presentar problemas en el crecimiento, capacidad reproductiva y enfermedades congénitas ( Oliver et al., 2007; Todd et al., 2009; Jaquier et al., 2012; Kleemann et al., 2015). La desnutrición antes de la concepción o durante el primer tercio de gestación tiene efectos negativos sobre el funcionamiento de diferentes órganos y sistemas fetales, tales como hígado (incremento en gluconeogénesis y disminución en el metabolismo de lípidos), páncreas (baja secreción de insulina), músculo (baja sensibilidad a la insulina), eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (incremento en secreción de cortisol), riñones (disminución en el número de nefronas) y corazón (menor número de miocitos) (De Boo y Harding, 2006). Entre las principales enfermedades programadas por el incorrecto funcionamiento de los órganos y sistemas mencionados previamente como consecuencia de la desnutrición alrededor de la concepción se encuentran las siguientes: glomerulonefritis, hipertensión, enfermedades coronarias, resistencia a insulina, dislipidemia y otros (Koleganova et al., 2012).

#### **2.4.4. Efectos en los parámetros reproductivos**

Las fallas reproductivas desde la ovulación al parto representan entre el 30 y 43% del fracaso en la reproducción ovina (Dixon et al., 2007). En este sentido, la nutrición periconcepcional determina el éxito de muchos eventos reproductivos (foliculogénesis, estro, ovulación, reconocimiento materno de gestación e implantación)

y consecuentemente, afecta los parámetros reproductivos en las ovejas, tales como: tasas de ovulación, fertilidad, fecundidad, prolificidad, porcentaje de pérdidas embrionarias-fetales y porcentaje de pariciones (Abdel-Mageed y Abd El-Gawad, 2015a). Esto demuestra la importancia del estudio de la restricción nutricional sobre los parámetros reproductivos en las ovejas.

El periodo crítico para el establecimiento de una gestación es en los primeros 25 d después de la fecundación, por consiguiente, se debe tener especial cuidado en la nutrición en este periodo (Dixon et al., 2007). Pérdidas embrionarias durante este tiempo podrían reflejar en un bajo porcentaje de fertilidad y prolificidad. En un estudio realizado con ovejas Rahmani y Barki, se restringió 30% de sus requerimientos nutricionales después de la concepción, y presentaron 55 y 52% menos corderos nacidos y destetados, respectivamente, por oveja servida (Abdel-Mageed y Abd El-Gawad, 2015b). Estos resultados se relacionaron con una elevada reabsorción embrionaria por efecto de un inadecuado ambiente uterino. Así, los niveles de energía ingeridos alrededor de la concepción incidieron considerablemente sobre los parámetros reproductivos.

Por su parte, Koyuncu y Canbolat (2009) reportaron que niveles bajos de energía afectaron los porcentajes de partos, tamaño de camada, fertilidad y los pesos al nacimiento. Sin embargo, otros estudios no reportaron efecto de la restricción nutricional sobre estos parámetros reproductivos (Muñoz et al., 2008; Sejjan et al., 2011; Debus et al., 2012). Estos autores reportan que una buena condición corporal al momento de la concepción es un factor importante que puede compensar la restricción nutricional post-concepción. Se ha reportado que ovejas con condiciones corporales bajas (1.5 unidades) o altas (4.0 unidades) tienen mayores tasas de abortos (14 vs 1%) en comparación a ovejas con condiciones corporales media (2.5 a 3.0 unidades) (Abdel-Mageen, 2009). Asimismo, el número de ovejas paridas fue elevado (98%) en ovejas de condición media en comparación a ovejas de baja condición corporal. No obstante, ovejas híbridas Pelibuey x Blackbelly en condición corporal alta (3.5 unidades) y baja (2.1 unidades) presentaron similar porcentaje de estro y duración del ciclo estral (Aké-López et al., 2013). Sin embargo, en dicho estudio las tasas de ovulación (2.1 vs

1.3) fueron mayores en ovejas de alta condición corporal, lo cual coincide con otros estudios (De la Isla et al., 2010).

Evidentemente, muchos de los fracasos reproductivos en los ovinos se deben a desnutrición en etapas claves del ciclo reproductivo. Aún con el uso de hormonas como estrategia reproductiva, si la nutrición no es adecuada al momento de la concepción y durante la gestación, los parámetros reproductivos resultantes no son óptimos. Cabe mencionar que se han realizado muchos esfuerzos para esclarecer el impacto negativo de la restricción nutricional periconcepcional sobre desarrollo embrionario y fetal, pero poca atención se ha puesto al impacto que tiene sobre los parámetros reproductivos en ovejas.

#### 4.4. Literatura Citada

1. Abdel-Mageed II, Abd El-Gawad MH. Does parity and nutrition in early pregnancy affect viability of embryos in both Rahmani and Barki Egyptian sheep?. *Asian J Anim Vet Adv* 2015a;10:25-34.
2. Abdel-Mageed II, Abd El-Gawad MH. Effects of breed, parity and post-mating nutrition on reproductive wastage and pregnancy outcomes of Egyptian sheep. *Small Ruminant Res* 2015b;130:171-177.
3. Abdel-Mageed, I. 2009. Body condition scoring of local Ossimi ewes at mating and its impact on fertility and prolificacy. *Egyp. J. Sheep Goat Sci.* 4:37-44.
4. Abecia JA, Forcada F, Gonzalez-Bulnes A. Pharmaceutical control of reproduction in sheep and goats. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2011;27:67-79.
5. Abecia JA, Sosa C, Forcada F, Meikle A. The effect of undernutrition on the establishment of pregnancy in the ewe. *Reprod Nutr Dev* 2006a;46:367-378.
6. Abecia JA, Sosa C, Forcada F, Meikle A. The effect of undernutrition on the establishment of pregnancy in the ewe. En: Ran illa M.J. (ed.), Carro M.D . (ed.), Ben Salem H. (ed.), Morand-Fehr P. (ed.). *Challenging strategies to promote the sheep and goat sector in the current global context.* Zaragoza: CIHEAM/CSIC/Universidad de León/FAO. 2006b;189-193.
7. Aké-López JR, Casanova-Estrella G, Centurión-Castro FG, Aké-Villanueva JR. Efecto de la condición corporal sobre la sincronización del estro, fertilidad y prolificidad de ovejas de pelo. *Bioagrobiencias* 2013;6:34-38.
8. Alexander B, Mastromonaco G, King WA. Recent advances in reproductive biotechnologies in sheep and goat. *J Veterinar Sci Technol* 2010;1:101.
9. Ali A, Hayder M. Ultrasonographic assessment of embryonic, fetal and placental development in Ossimi sheep. *Small Ruminant Res* 2007;73:277-282.
10. Andrade-Montoya AM. Estudio de características reproductivas en un rebaño comercial de ovejas Pelibuey en Campeche, México. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Posgraduados. Montecillo, Estado de México, México 2010.
11. Arroyo J, Sánchez-Hernández NJ, Ávila-Serrano NY, Camacho-Escobar MA, Rodríguez-De-La-Torre M. Reproductive seasonality in creole hair sheep in the tropic. *Trop Anim Health Prod* 2016;48:219-222.

12. Arroyo J. Estacionalidad reproductiva de la oveja en México. *Trop Subtrop Agroecosyst* 2011;14:829-845.
13. Arroyo LJ, Gallegos-Sánchez A, Villa-Godoy A, Berruecos JM, Perera G, Valencia J. Reproductive activity of Pelibuey and Suffolk ewes at 19° north latitude. *Anim Reprod Sci* 2007;102:24-30.
14. Arthur GH, Noakes DE, Pearson H. Reproducción y Obstetricia en Veterinaria (Teriogenología). 6<sup>TM</sup> Ed., Editorial Interamericana, McGraw-Hill, Madrid. 1991;180.
15. Atuesta JE, Gonella-Díaz AM. Control hormonal del ciclo estral en bovinos y ovinos. *Revista Spei Domus* 2011;7:15-25.
16. Augustin R, Pocar P, Navarrete-Santos A, Wrenzycki C, Gandolfi F, Niemann H, Fischer B. Glucose transporter expression is developmentally regulated in vitro derived bovine preimplantation embryos. *Mol Reprod Dev* 2001;60:370-376.
17. Avendaño L, Álvarez FD, Salomé J, Correa A, Molina L, Cisneros FJ. Evaluación de algunos rasgos productivos del borrego Pelibuey en el noroeste de México: Resultados preliminares. *Rev Cub Cienc Agri* 2004;38:131-136.
18. Avendaño-Reyes L, Álvarez-Valenzuela FD, Molina-Ramírez L, Rangel-Santos R, Correa-Calderón A, Rodríguez-García J, Cruz-Villegas M, Robinson PH, Famula TR. Reproduction performance of Pelibuey ewes in response to estrus synchronization and artificial insemination in Northwest Mexico. *J Anim Vet Adv* 2007;6:807-812.
19. Aziz DM, Lazim EH. Transabdominal ultrasonography in standing position for pregnancy diagnosis in Awassi ewes. *Small Ruminant Res* 2012;107:131-135.
20. Baumann MU, Deborde S, Illsley NP. Placental glucose transfer and fetal growth. *Endocrine* 2002;19:13-22.
21. Bell AW, Bauman DE. Adaptations of glucose metabolism during pregnancy and lactation. *J Mammary Gland Biol* 1997;2:265-278.
22. Bloomfield FH, Oliver MH, Harding JE. The late effects of fetal growth patterns. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2006;91:F299-F304.
23. Bloomfield FH. Epigenetic modifications may play a role in the developmental consequences of early life events. *J Neurodev Disord* 2011;3:348-355.

24. Boland MP, Lonergan P, O'Callaghan D. Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, and oocyte and embryo development. *Theriogenology* 2001;55:1323-1340.
25. Brett KE, Ferraro ZM, Yockell-Lelievre J, Gruslin A, Adamo KB. Maternal-fetal nutrient transport in pregnancy pathologies: the role of the placenta. *Int J Mol Sci* 2014;15:16153-16185.
26. Burke JM. Lamb production of Dorper, Katahdin, and St. Croix Bred in summer, winter, or spring in the Southeastern United States. *Sheep & Goat Res J* 2005;20:51-59.
27. Cambellas JB. Comportamiento reproductivo en ovinos tropicales. *Revista Científica FCV-LUZ* 1993;3:135-145.
28. Capper JL, Wilkinson RG, Kasapidou E, Pattinson SE, Mackenzie AM, Sinclair LA. The effect of dietary vitamin E and long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation of pregnant and lactating ewes on placental and mammary transfer of vitamin E to the lamb. *Br J Nut* 2005;93:549-557.
29. Caravaca-Rodríguez FP, Castel-Genis JM, Guzmán-Guerrero JL, Delgado-Pertíñez M, Mena-Guerrero Y, Alcalde-Aldea MJ, González-Redondo P. Bases de la reproducción animal. 1ra Ed, Universidad de Sevilla, España 2005.
30. Carrillo L, Segura-Carmona JC, Sarmiento L. Algunos factores que determinan el periodo de gestación en ovinos de pelo. *Rev Biomed* 1997;8:15-20.
31. Caton JS, Hess BW. Maternal plane of nutrition: Impacts on fetal outcomes and postnatal offspring responses. Invited Review in Proc 4th Grazing Livestock Nutrition Conference. Hess BW, Delcurto T, Bowman JGP, Waterman RC eds. West Sect Am Soc Anim Sci Champaign IL 2010:104-122.
32. Catunda AGV, Lima ICS, Bandeira GC, Gadelha CRF, Pereira ES, Salmito-Vanderley CSB, Araújo AA, Martins GA, Campos ACN. Blood leptin, insulin and glucose concentrations in hair sheep raised in a tropical climate. *Small Ruminant Res* 2013;114:272-279.
33. Combellas J. Production and reproduction parameters of tropical sheep breeds in improved production systems. *Trop Anim Prod* 1980;5:266-272.

34. D'cunha C, Sankaran K. Persistent fetal circulation. *Paediatr Child Health* 2001;6:744-750.
35. De Boo HA, Harding JE. The developmental origins of adult disease (Barker) hypothesis. *Aust NZ J Obstet Gyn* 2006;46:4-14.
36. De La Isla HG, Aké LJR, Avala BA, Gonzalez-Bulnes A. Efecto de la condición corporal y la época del año sobre el ciclo estral, estro, desarrollo folicular y tasa ovulatoria en ovejas Pelibuey mantenidas en condiciones de trópico. *Vet Méx* 2010;41:167-175.
37. Debus N, Chavatte-Palmer P, Viudes G, Camous S, Roséfort A, Hassoun P. Maternal periconceptional undernutrition in Merinos d'Arles sheep: 1. Effects on pregnancy and reproduction results of dams and offspring growth performance. *Theriogenology* 2012;77:1453-1465.
38. Dixon AB, Knight M, Winkler JL, Marsh DJ, Pate JL, Wilson ME, Dailey RA, Seidel G, Inskeep EK. Patterns of late embryonic and fetal mortality and association with several factors in sheep. *J Anim Sci* 2007;85:1274-1284.
39. Downey BR. Regulation of the estrous cycle in domestic animals - A review. *Can vet J* 1980;21:301-306.
40. Duggavathi R, Murphy BD. Ovulation signals. *Science* 2009;15:890-891.
41. Fleming TP, Velazquez MA, Eckert JJ, Lucas ES, Watkins AJ. Nutrition of females during the peri-conceptional period and effects on foetal programming and health of offspring. *Anim Reprod Sci* 2012;130:193-197.
42. Fletcher TF, Weber AF. Veterinary developmental anatomy. 2013. Disponible en: <http://vanat.cvm.umn.edu/vanatpdf/EmbryoLectNotes.pdf>.
43. Forde N, Beltman ME, Lonergan P, Diskin M, Roche JF, Crowe MA. Oestrus cycles in *Bos Taurus* cattle. *Anim Reprod Sci* 2011;124:163-169.
44. Freetly HC, Leymaster KA. Relationship between litter birth weight and and litter size in six breeds of sheep. *J Anim Sci* 2004;82:612-618.
45. Gallaher BH, Brier BH, Keven CL, Harding JE, Gluckman PD. Fetal programming of insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding protein-3: evidence for an altered response to undernutrition in late gestation following exposure to periconceptional undernutrition in the sheep. *J Endocrinol* 1998;159:501-508.

46. García J, Orihuela A, Solano J, Flores-Pérez FI, Aguirre V, Vázquez R, Pablos JL. Short-term under-nutrition affects feeding and sexual behaviour in oestrous-synchronized Saint Croix ewes (*Ovis aries*). *J Appl Anim Res* 2016;44:419-423.
47. Gardner DS, Buttery PJ, Daniel Z, Symonds ME. Factors affecting birth weight in sheep: maternal environment. *J Reprod Sci* 2007;133:297-307.
48. Gastelum-Delgado MA, Avendaño-Reyes L, Álvarez-Valenzuela FD, Correa-Calderón A, Meza-Herrera CA, Mellado M, Macías-Cruz U. Conducta estral circanual en ovejas Pelibuey bajo condiciones áridas del noroeste de México. *Rev Mex Cienc Pec* 2015;6:109-118.
49. Gavojdian D, Budai C, Czyszter LT, Csizmar N, Javor A, Kusza S. Reproduction efficiency and health traits in Dorper, White Dorper, and Tsigai sheep breeds under temperate European conditions. *Asian Australas J Anim Sci* 2015;28:599-603.
50. Godfrey RW, Collins JR, Hensley EL, Wheaton JE. Estrus synchronization and artificial insemination of hair sheep ewes in the tropics. *Theriogenology* 1999;51:985-997.
51. Gonzalez-Bulnes A, Meza-Herrera CA, Rekik M, Ben Salem H, Kridli RT. Limiting factors and strategies for improving reproductive outputs of small ruminants reared in semi-arid environments. *Semi-arid environments: agriculture, water supply and vegetation*. Edit. Nova Science Publishers 2011:41-42.
52. González-Garduño R, Torres-Hernández G, Arece-García J. Comportamiento productivo y reproductivo de ovinos Pelibuey en un sistema de pariciones aceleradas con tres épocas de empadre al año. *Zootecnia Trop* 2010;28:51-56.
53. González-Godínez A, Urrutia-Morales J, Gámez-Vázquez HG. Comportamiento reproductivo de ovejas Dorper y Katahdin empadradas en primavera en el norte de México. *Trop Subtrop Agroecosyst* 2014;17:123-127.
54. González-Reyna A, Lucero-Magaña FA, Briones-Encinia F, Vázquez-Armijo JF, Limas-Martínez AG, Martínez-González JC. Factores que alteran la conducta de estro en ovejas de pelo sincronizadas con acetato de fluorogestona y gonadotropina de suero de yegua preñada. *Abanico Vet* 2014;4:13-20.
55. Gootwine E, Spencer TE, Bazer FW. Litter-size-dependent intrauterine growth restriction in sheep. *Animal* 2007;1:547-564.

56. Gordon I. Laboratory production of cattle embryos. 2da Edición. Typeset by AMA DataSet Ltd, UK 2003: 553p.
57. Guillomot M, Turbe A, Hue I, Renard JP. Staging of ovine embryos and expression of the T-box genes Brachyury and Eomesodermin around gastrulation. *Reproduction* 2004;127:491-501.
58. Gursel FE, Durak MH, Altiner A. Serum ceruloplasmin levels in ewes fed deficient-energy during late pregnancy. *J Anim Vet Adv* 2010;9:820-825.
59. Hafez ESE, Hafez B. Transporte y sobrevivencia de gametos en: Hafez, E.S.E. and Hafez, B., 2004. *Reproducción Animal*. (7 ed.) Manole Barueri 2004:83-96.
60. Harmeyer J, Schlumbohm C. Pregnancy impairs ketone body disposal in late gestating ewes: Implications for onset of pregnancy toxemia. *Res Vet Sci* 2006;81:254-264.
61. Hay WWJ, Mezrich HK. Effect of maternal glucose concentration and transfer in pregnant sheep. *Proc Soc Exper Biol Med* 1989;190:63-69.
62. Hinojosa-Cuéllar JA, Oliva-Hernández J, Torres-Hernández G, Segura-Correa JC, González-Garduño R. Productividad de ovejas F1 Pelibuey x Blackbelly y sus cruces con Dorper y Katahdin en un sistema de producción del trópico húmedo de Tabasco, México. *Arch Med Vet* 2015;47:167-174.
63. Hinojosa-Cuéllar JA, Oliva-Hernández J. Distribución de partos por estación en ovejas de razas de pelo y cruces en un ambiente tropical húmedo. *Revista Científica FCV-LUZ* 2009;19:288-294.
64. Hinojosa-Cuellar JA. Caracterización productiva predestete de corderos y ovejas de pelo en el trópico húmedo de México. Tesis de Doctorado en Ciencias por Investigación. Colegio de Postgraduados. 2011:1-66.
65. <http://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/Libros2013/CD001769.pdf>.
66. Jaquierey AL, Oliver MH, Rumball CWH, Boomfield FH, Harding E. Undernutrition before mating in ewes impairs the development of insulin resistance during pregnancy. *Obstet Gynecol* 2009;114:869-76.
67. Jaquierey AL, Oliver MH, Bloomfield FH, Harding JE. Periconceptional events perturb postnatal growth regulation in sheep. *Pediatr Res* 2011;70:261-266.

68. Jaquierey AL, Oliver MH, Honeyfield-Ross M, Harding JE, Bloomfield FH. Periconceptional undernutrition in sheep affects adult phenotype only in males. *Journal of Nutrition and Metabolism* 2012;2:1-7. <http://dx.doi.org/10.1155/2012/123610>.
69. Keisler DH, Lucy MC. Perception and interpretation of the effects of undernutrition on reproduction. *J Anim Sci* 1996;74:l-17.
70. Kiener, M. Mecanismos y mediadores químicos involucrados en la ovulación en animales domésticos. *Rev FAVE- Cienc Vet* 2010;9:39-48.
71. King G. Pregnancy characteristics. *J Dairy Sci* 2002;1:2283-2290.
72. Kiyama Z, Alexander BM, Van Kirk EA, Murdoch WJ, Hallford DM, Moss GE. Effects of feed restriction on reproductive and metabolic hormones in ewes. *J Anim Sci* 2004;82:2548-2557.
73. Kleemann DO, Kelly JM, Rudiger SR, McMillen IC, Morrison JL, Zhang S, MacLaughlin SM, Smith DH, Grimson RJ, Jaensch KS, Brien FD, Plush KJ, Hiendleder S, Walker SK. Effect of periconceptional nutrition on the growth, behaviour and survival of the neonatal lamb. *Anim Reprod Sci* 2015;160:12-22.
74. Klein C. Identification of genes induced by the conceptus in the bovine endometrium during the pre-implantation period. Thesis for the attainment of the title Doctor in Veterinary Medicine from the Faculty of Veterinary Medicine of the Ludwig-Maximilians University Munich, Germany 2006.
75. Koleganova N, Benz K, Piecha G, Ritz E, Amann K. Renal, cardiovascular and metabolic effects of fetal programming. *Nephrol Dial Transplant* 2012;27:3003-3007.
76. Koyuncu M, Canbolat O. Effect of dietary energy levels on the reproductive performance of Kivircik sheep under a semi-intensive system in the South-Marmara region of Turkey. *J Anim Feed Sci* 2009;18:620-627.
77. Landau S, Molle G. Nutrition effects on fertility in small ruminants with an emphasis on Mediterranean sheepbreeding systems. En Lindberg JE (ed.), Gonda HL (ed.) Ledinl (ed.). *Recent advances in small ruminant nutrition*. Zaragoza: CIHEAM 1997:203-216.

78. Lawson RAS, Cahill LP. Modification of the embryo-maternal relationship in ewes by progesterone treatment early in the oestrous cycle. *J Reprod Fertil* 1983;67:473-475.
79. Lenis Y, Ramon N, Restrepo J, Olivera M, Tarazona A. Interferon TAU en la ventana de reconocimiento materno embrionario Bovino. *Rev UDCA Act Divulg Cient* 2010;13:17-28.
80. Leoni GG, Bebbere D, Succu S, Berlinguer F, Mossa F, Galioto M, Bogliolo L, Ledda S, Naitana S. Relations between relative mRNA abundance and developmental competence of ovine oocytes. *Mol Reprod Dev* 2007;74:249-257.
81. Lozano JM, Abecia JA, Forcada F, Zarazaga L, Alfaro B. Effect of undernutrition on the distribution of progesterone in the uterus of ewes during the luteal phase of the estrus cycle. *Theriogenology* 1998;49:539-546.
82. Macedo R, Alvarado A. Efecto de la época de monta sobre la productividad de ovejas Pelibuey bajo dos sistemas de alimentación en colima, México. *Arch Zootec* 2005;54:51-62.
83. Macías-Cruz U, Álvarez-Valenzuela FD, Correa-Calderón A, Díaz-Molina R, Mellado M, Meza-Herrera CA, Avendaño-Reyes L. Thermoregulation of nutrient-restricted hair ewes subjected to heat stress during late pregnancy. *J Therm Biol* 2013;38:1-9.
84. Macías-Cruz U, Álvarez-Valenzuela FD, Correa-Calderón A, Molina-Ramírez L, González-Reyna A, Soto-Navarro S, Avendaño-Reyes L. Pelibuey ewe productivity and subsequent pre-weaning lamb performance using hair-sheep breeds under a confinement system. *J Appl Anim Res* 2009;36:255-260.
85. Macías-Cruz U, Álvarez-Valenzuela FD, Olguín-Arredondo HA, Molina-Ramírez L, Avendaño-Reyes L. Ovejas Pelibuey sincronizadas con progestágenos y apareadas con machos de razas Dorper y Katahdin bajo condiciones estabuladas: producción de la oveja y crecimiento de los corderos durante el período predestete. *Arch Med Vet* 2012;44:29-37.
86. Macías-Cruz U, Gastelum M A, Álvarez-Valenzuela FD, Correa-Calderón A, Díaz R, Meza-Herrera CA, Mellado M, Avendaño-Reyes L. Effects of summer heat stress on physiologic variables, ovulation and progesterone secretion in Pelibuey

ewes under natural outdoor conditions in an arid region. *Anim Sci J* 2016;87:354-60.

87. Macías-Cruz U, Ponce-Covarrubias JL, Álvarez-Valenzuela FD, Correa-Calderón A, Meza-Herrera CA, Avendaño-Reyes L. Reproductive efficiency of Pelibuey and Romanov × Pelibuey ewes synchronized with synthetic progesterone and low doses of PMSG under a hot environment. *Czech J Anim Sci* 2013;58:546-553.
88. Macías-Cruz U, Sánchez-Estrada TJ, Gastelum-Delgado MA, Avendaño-Reyes L, Correa-Calderón A, Álvarez-Valenzuela FD, Díaz-Molina R, Meza-Herrera C A, Mellado M. Actividad reproductiva estacional de ovejas Pelibuey bajo condiciones áridas de México. *Arch Med Vet* 2015;47:381-386.
89. Mackey DR, Sreenan JM, Roche JF, Diskin MG. Effect of acute nutritional restriction on incidence of anovulation and periovulatory estradiol and gonadotropin concentrations in beef heifers. *Biol Reprod* 1999;61:1601-1607.
90. MacLaughlin SM, Walker SK, Roberts CT, Kleemann DO, McMillen IC. Periconceptional nutrition and the relationship between maternal body weight in the periconceptional period and feto-placental growth in the sheep. *J Physiol* 2005;565:111-124.
91. Magaña-Monforte JG, Huchin-Cab M, Aké-López RJ, Segura-Correa JC. A field study of reproductive performance and productivity of Pelibuey ewes in Southeastern Mexico. *Trop Anim Health Prod* 2013;45:1771-1776.
92. Mani AU, McKelvey WAC, Watson ED. The effects of low levels of feeding on response to synchronization of estrus, ovulation rate and embryo loss in goats. *Theriogenology* 1992;30:1016-1022.
93. Martin GB, Rodger J, Blache D. Nutritional and environmental effects on reproduction in small ruminants. *Reprod Fert Dev* 2004;16:491-501.
94. Martínez-Partida JA, Jiménez-Sánchez L, Herrera-Haro JG, Valtierra-Pacheco E, Sánchez-López E, López-Reyna MC. Ganadería ovino-caprino en el marco del programa de desarrollo rural en Baja California. *Rev Univer Cienc* 2011;27:331-344.
95. Martínez-Rojero RD, Santamaría LR, Torres-Hernández G, Mastache-Lagunas AA, Michel-Aceves AC. Evaluación de la fertilidad y prolificidad en ciclos reproductivos

- de ocho meses durante tres estaciones en ovejas Pelibuey en el trópico seco Mexicano. *Rev Cient FCV-LUZ* 2011;21:383-387.
96. McDonald, E. and M. Greenhalgh. 1999. *Nutrición Animal*. 5<sup>a</sup> Ed. Editorial Acribia, S.A. p. 329-391.
  97. Mellor DJ, Murray L. Effects of maternal nutrition on udder development during late pregnancy and on colostrum production in Scottish Blackface ewes with twin lambs. *Res Vet Sci* 1985;39:230-234.
  98. Mellor DJ. Nutritional and placental determinants of foetal growth rate in sheep and consequences for the newborn lamb. *Br Vet J* 1983;139:307-324.
  99. Menchaca A, Rubianes E. Pregnancy rate obtained with short-term protocol for timed artificial insemination in goats. *Reprod Domest Anim* 2007;42:590-593.
  100. Mossa F, Walsh SW, Ireland JJ, Evans ACO. Early nutritional programming and progeny performance: is reproductive success already set at birth?. *Anim Front* 2015;5:18-24.
  101. Muñoz C, Carson AF, McCoy MA, Dawson LER, O'Connell NE, Gordon AW. Nutritional status of adult ewes during early and mid-pregnancy. 1. Effects of plane of nutrition on ewe reproduction and offspring performance to weaning. *Animal* 2008;2:52-63.
  102. Muñoz C, Carson AF, McCoy MA, Dawson LER, Wylie ARG, Gordon AW. Effects of plane of nutrition of ewes in early and mid-pregnancy on performance of the offspring: Female reproduction and male carcass characteristics. *J Anim Sci* 2009;87:3647-3655.
  103. Naqvi SMK, Sejian V, Karim SA. Effect of feed flushing during summer season on growth, reproductive performance and blood metabolites in Malpura ewes under semiarid tropical environment. *Trop Anim Health Prod* 2013;45:143-148.
  104. Notter DR. Potential for hair sheep in the United States. En: *Proceedings of the American Society for Animal Science* 2000. Disponible en: <http://www.asas.org/symposia/proceedings/0907.pdf>.
  105. NRC. *Nutrient Requirements of Small Ruminants: sheep, goats, cervids, and new world camelids*. Natl. Acad. Press, Washington, DC. 2007.

106. Oliver MH, Hawkins P, Harding JE. Periconceptional undernutrition alters growth trajectory and metabolic and endocrine responses to fasting in late-gestation fetal sheep. *Pediatr Res* 2005;57:591-598.
107. Oliver MH, Jaquiere AL, Bloomfield FH, Harding JE. The effects of maternal nutrition around the time of conception on the health of the offspring. *Soc Reprod Fertil Suppl* 2007;64:397-410.
108. Osgerby JC, Gadd TS, Wathes DC. Effect of maternal body condition on placental and fetal growth and the insulin-like growth factor axis in Dorset ewes. *Reproduction* 2003;125:717-731.
109. Osgerby JC, Wathes DC, Howard D, Gadd TS. The effect of maternal undernutrition on the placental growth trajectory and the uterine insulin-like growth factor axis in the pregnant ewe. *J Endocrin* 2004;182:89-103.
110. Osgerby JC, Wathes DC, Howard D, Gadd TS. The effect of maternal undernutrition on ovine fetal growth. *J Endocrin* 2002;173:131-141.
111. Parr RA, Davis IF, Miles MA, Squires TJ. Liver blood-flow and metabolic-clearance rate of progesterone in sheep. *Res Vet Sci.* 1993;55:311-316.
112. Pisani LF, Antonini S, Pocar P, Ferrari S, Brevini TAL, Rhind SM, Gandolfi F. Effects of pre-mating nutrition on mRNA levels of developmentally relevant genes in sheep oocytes and granulosa cells. *Reproduction* 2008;136:303-312.
113. Primakoff P, Myles DG. Cell–cell membrane fusion during mammalian fertilization. *FEBS Letters* 2007;581:2174-2180.
114. Primakoff P, Myles DG. Penetration, adhesion, and fusion in mammalian sperm-egg interaction. *Science* 2002;296:2183-2184.
115. Rahman ANMA., Abdullah RB, Wan-Khadijah WE. Gametogenesis, fertilization and early embryogenesis in mammals with special reference to goat: A review. *J Biol Sci* 2008;8:1111-1128.
116. Regnault TRH, Friedman JE, Wilkening RB, Anthony RV, Hay Jr WW. Fletoplacental transport and utilization of amino acids in IUGR - A Review. *Placenta* 2005;26:S52-S62.
117. Reynolds LP, Redmer DA. Angiogenesis in the placenta. *Biol Reprod* 2001;64:1033-1040.

118. Rhind SM, Mc Kelvey WAC, Mc Millen SR, Gunn RG, Elston DA. Effect of restricted food intake, before and/or after mating, on the reproductive performance of Greyface ewes. *Anim Prod* 1989;48:149-155.
119. Robertson SM, Clayton EH, Friend MA. Reproductive performance of ewes grazing Lucerne during different periods around mating. *Anim Reprod Sci* 2015;162:62-72.
120. Rodríguez AP, Coelho LA, Nonaka O, Sasa A, Russiano WR, Balieiro JC, Ramos ES. Annual characteristics of estrous activity in wool and hair ewe lambs under subtropical conditions. *Scientia Agricola* 2007;64:468-475.
121. Rosiles GC, Ruelas AFC., Madrazo PAV. Producción de las ovejas Pelibuey pre y posparto alimentadas con diversos aportes nutricionales. *Tec Pec Mex* 1995;33:183-191.
122. Rubinstein E, Ziyat A, Wolf JP, Naour FL, Boucheix C. The molecular players of sperm–egg fusion in mammals. *Semin Cell Dev Biol* 2006;17:254-263.
123. Rumball CWH, Bloomfield FH, Oliver MH, Harding JE. Different periods of periconceptional undernutrition have different effects on growth, metabolic and endocrine status in fetal sheep. *Pediatr Res* 2009;66:605-613.
124. Rumball CWH, Harding JE, Oliver MH, Bloomfield FH. Effects of twin pregnancy and periconceptional undernutrition on maternal metabolism, fetal growth and glucose-insulin axis function in ovine pregnancy. *J Physiol* 2008;586:1399-1411.
125. Russel AJF, Doney JM, Gunn RJ. Subjective assessment of body fat in live sheep. *J Agric Sci* 1969;72:451-454.
126. Russell DL, Robker RL. Molecular mechanisms of ovulation: co-ordination through the cumulus complex. *Hum Reprod Update* 2007;13:289-312.
127. Sánchez-Dávila F, Bernal-Barragán H, Padilla-Rivas G, del Bosque-González A S, Vázquez-Armijo JF, Ledezma-Torres RA. Environmental factors and ram influence litter size, birth, and weaning weight in Saint Croix hair sheep under semi-arid conditions in Mexico. *Trop Anim Health Prod* 2015;47:825-831.
128. Santos GMG, Silva-Santos KC, Melo-Sterza FA, Mizubuti IY, Moreira FB, Seneda MM. Reproductive performance of ewes treated with an anestrus induction/synchronization protocol during the spring season. *Anim Reprod Sci* 2011;8:3-8.

129. Satterfield MC, Bazer FW, Spencer TE. Progesterone regulation of preimplantation conceptus growth and galectin 15 (lgals15) in the ovine uterus. *Biol Reprod* 2006;75:289-296.
130. Scaramuzzi R, Campbell B, Downing J, Kendall N, Khalid M, Muñoz-Gutiérrez M, Somchit A. Review: A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. *Reprod Nutr Dev* 2006;46:339-354.
131. Scaramuzzi RJ, Martin GB. The importance of interaction among nutrition, seasonality and socio-sexual factors in the development of hormone-free methods for controlling fertility. *Reprod Dom Anim* 2008;43:129-136.
132. Segura-Correa JC, Sarmiento L, Rojas O. Productivity of Pelibuey and Blackbelly ewes in Mexico under extensive management. *Small Ruminant Res* 1996;21:57-62.
133. Sejian V, Bahadur S, Naqvi SMK. Effect of nutritional restriction on growth, adaptation physiology and estrus responses in Malpura ewes. *Anim Biol* 2014;64:189-205.
134. Sejian V, Maurya VP, Naqvi SMK, Kumar D, Joshi A. Effect of induced body condition score differences on physiological response, productive and reproductive performance of Malpura ewes kept in a hot, semi-arid environment. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 2010a;94:154-61.
135. Sejian V, Maurya VP, Naqvi SMK. Adaptability and growth of Malpura ewes subjected to thermal and nutritional stress. *Trop Anim Health Prod* 2010b; 42:1763-1770.
136. Sejian V, Maurya VP, Kumar K, Naqvi SMK. Effect of multiple stresses (thermal, nutritional and walking stress) on the reproductive performance of Malpura ewes. *Vet Med Intern* 2012. doi:10.1155/2012/471760.
137. Sejian V, Maurya VP, Naqvi SM. Effect of thermal stress, restricted feeding and combined stresses (thermal stress and restricted feeding) on growth and plasma reproductive hormone levels of Malpura ewes under semi-arid tropical environment. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 2011;95:252-8.

138. SEMARNAT. Programa estatal de acción ante el cambio climático de Baja California. 2012. Disponible en:
139. Shennan DB, Boyd CAR. Ion transport by the placenta: A review of membrane transport systems. *Biochim Bio Physica Acta* 1987;906(3):437-457.
140. Song G, Bazer FW, Spencer TE. Pregnancy and interferon tau regulate RSAD2 and IFIH1 expression in the ovine uterus. *Reproduction* 2007;133:285-295.
141. Sosa C, Abecia JA, Forcada F, Viñoles C, Tasende C, Valares JA, Palacín I, Martín GB, Meikle A. Effect of undernutrition on uterine progesterone and oestrogen receptors and on endocrine profiles during the ovine oestrous cycle. *Reprod Nutr Dev* 2006;18:447-458.
142. Sosa C, Gonzalez-Bulnes A, Abecia JA, Forcada F, Meikle A. Short-term undernutrition affects final development of ovulatory follicles in sheep synchronized for ovulation. *Reprod Dom Anim* 2010;45:1033-1038.
143. Spencer TE, Bazer FW. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Reprod Biol Endocrinol* 2004;1:1-15.
144. Spencer TE, Greg AJ, Bazer FW, Burghardt RC. Implantation mechanisms: insights from the sheep. *Reproduction*. 2004;128:657-668.
145. Todd SE, Oliver MH, Jaquiery AL, Bloomfield FH, Harding JE. Periconceptual undernutrition of ewes impairs glucose tolerance in their adult offspring. *Pediatr Res* 2009;65:409-413.
146. Valencia J, Porras A, Mejía O, Berruecos JM, Trujillo J, Zarco L. Actividad reproductiva de la oveja Pelibuey durante la época del anestro: influencia de la presencia del macho. *Rev Cient FCV-LUZ* 2006;16:136-141.
147. Valenzuela A, Nieto S. Docosahexanoic acid (DHA) in fetal development and infant nutrition. *Rev Méd Chile* 2001;129:1203-1211.
148. Velazquez MA. Impact of maternal malnutrition during the periconceptual period on mammalian preimplantation embryo development. *Domest Anim Endocrin* 2015;51:27-45.
149. Viñoles C, Fosberg M, Banchero G, Rubianes E. Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology* 2001;55:993-1004.

150. Wang J, Wu Z, Li D, Li N, Dindot SV, Satterfield MC, Bazar FW, Wu G. Nutrition, epigenetics, and metabolic syndrome. *Antioxid Redox Signal* 2012;17:282-301.
151. Wassarman PM, Jovine L, Litscher ES. A profile of fertilization in mammals. *Nat Cell Biol* 2001;3:E59-E64.
152. Wassarman PM, Litscher ES. Mammalian fertilization: the egg's multifunctional zona pellucida. *Int J Dev Biol* 2008;52:666-676.
153. Wildeus S. Accelerated and out of-season breeding with hair sheep. Proceedings of hair sheep workshop at Virginia State University, Petersburg, VA 2005.
154. Wildeus S. Current concepts in synchronization of estrus: sheep and goats. *J. Anim Sci* 2000;77:1-14.
155. Wildeus S. Hair sheep genetic resources and their contribution to diversified small ruminant production in the United States. *J Anim Sci* 1997;75:630-640.
156. Wu G, Bazer FW, Wallace JM, Spencer TE. Intrauterine growth retardation: Implications for the animal sciences. *J Anim Sci* 2006;84:2316-2337.
157. Wu G, Imhoff-Kunsch B, Girard AW. Biological mechanisms for nutritional regulation of maternal health and fetal development. *Pediatr Perin Epidemiol* 2012;26:4-26.
158. Wu G. Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. *Amino Acids* 2009;37:1-17.

## CAPÍTULO III. ARTÍCULO 1

### Estado corporal materno y desarrollo fetal por efecto de la restricción nutricional en el pre-empadre y primer tercio de gestación en ovejas de raza de pelo

(Enviado a la Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias)

#### 3.1. Resumen

Un total de 48 ovejas multíparas Katahdin x Pelibuey (PV= 50.3±0.6 kg, CC= 3.0±0.5 unidades) fueron usadas para evaluar el efecto de la restricción nutricional pre-empadre (30 d, RT), primer tercio de gestación (TR) o ambos (RR) sobre el estado corporal materno y desarrollo fetal al d 50 de preñez. Adicionalmente se incluyó un grupo no restringido nutricionalmente como testigo. El peso vivo y la condición corporal al empadre fueron menores ( $P < 0.01$ ) en las ovejas RR y RT, pero al d 50 post-concepción fueron menores ( $P < 0.01$ ) en las ovejas TR y RR que en las otras. Comparado con los otros tratamientos, los fetos de ovejas RT tuvieron mayor ( $P < 0.05$ ) área vesicular, fetal y abdominal. El tamaño de los cotiledones no varió ( $P > 0.05$ ) con el régimen nutricional. Adicionalmente, solo en ovejas RT se observó una correlación positiva ( $P < 0.05$ ;  $r = 0.70$ ) entre pérdidas de peso en pre-empadre con área fetal. La pérdida de peso pre-empadre y la ganancia de peso post-concepción también se correlacionaron positivamente ( $P < 0.05$ ;  $0.66 \leq r \leq 0.68$ ) con largo y ancho abdominal en estas ovejas. En conclusión, el estado corporal de las ovejas de pelo decreció durante los tiempos de restricción nutricional, sin embargo, el crecimiento fetal al final del primer tercio de gestación fue modificado por efecto de la restricción nutricional pre-empadre.

**Palabras clave:** Preñez, restricción nutricional, longitud cráneo-caudal, cotiledones, crecimiento fetal

### 3.2. Abstract

A total of 48 Katahdin x Pelibuey multiparous ewes (LW= 50.3±0.6 kg, BCS= 3.0±0.5 units) were used to evaluate the effects of nutritional restriction pre-mating (30 d, RT), first third of gestation (TR) or both periods (RR) on maternal body status and fetal development at d 50 of pregnancy. Also, a control group (no food restriction) was included. Both live weight and body condition score at mating were lower ( $P < 0.01$ ) in RR and RT ewes, but at day 50 post-conception were lower ( $P < 0.01$ ) in TR and RR ewes. Compared with other treatments, the fetuses from RT ewes had higher ( $P < 0.05$ ) vesicular, fetal and abdominal area. The size of cotyledons did not vary ( $P < 0.05$ ) with the nutritional regimen. Additionally, only in RT ewes was observed a positive correlation ( $P < 0.05$ ;  $r = 0.70$ ) between pre-mating weight loss with fetal area. Pre-mating weight loss and post-conception weight gain also were positively correlated ( $P < 0.05$ ;  $0.66 \leq r \leq 0.68$ ) with long and breadth of abdomen. In conclusion, the body state of hair ewes decreased during periods of nutritional restriction; however, the fetal growth at end of the first third of gestation was modified by effect of the pre-mating nutritional restriction.

**Key words:** Pregnancy, nutritional restriction, crow-rump length, cotyledons, fetal growth.

### 3.3. Introducción

En la actualidad existe suficiente evidencia indicando que la capacidad productiva, reproductiva e inmunológica de los ovinos a través de su vida post-natal tiene una relación directa con el ambiente uterino en que se desarrollaron durante la gestación. El estado nutricional de las ovejas preñadas ha sido el principal factor relacionado con alteraciones en el ambiente uterino y desarrollo y crecimiento fetal<sup>(1)</sup>. En este sentido, una alimentación apropiada y ofrecida estratégicamente antes y en momentos críticos de la gestación asegura un correcto desarrollo de las crías tanto en su vida pre- y post-natal<sup>(2,3)</sup>.

La restricción nutricional alrededor de la periconcepción es una condición alimenticia que mayormente se ha relacionado con fallas en la trayectoria del crecimiento fetal durante el último tercio de gestación<sup>(4,5)</sup>, asimismo con problemas post-natales en los corderos jóvenes y adultos, tales como alta susceptibilidad a enfermedades, lento crecimiento y baja fertilidad<sup>(6,7)</sup>. Lo anterior es debido a que la desnutrición de las ovejas alrededor de la concepción promueve una serie de adaptaciones embrionarias, muchas veces de tipo epigenéticas y metabólicas, para poder sobrevivir bajo escenarios de limitada disponibilidad de nutrientes, lo cual, a su vez, se refleja en una alteración en la programación fetal que afecta la competencia funcional de las crías tanto en el pre- y post-parto<sup>(8)</sup>.

Cabe mencionar que la mayoría de estudios sobre restricción nutricional en la periconcepción se direccionaron para evaluar los efectos a largo plazo sobre el desarrollo fetal, ya que durante el último tercio de preñez se presenta alrededor del 80% del crecimiento del producto<sup>(1)</sup>. Sin embargo, algunos estudios sugieren que, dependiendo del grado y tiempo de desnutrición pre- y post-concepción, el impacto negativo de restricción nutricional puede verse reflejado en un corto plazo. Así, en ovejas Malpura alimentadas deficientemente en la periconcepción observaron menor desarrollo de la vesícula fetal al d 50 de preñez<sup>(9)</sup>, mientras que en ovejas Grayface restringidas durante 39 días post-concepción reportaron una reducción en el diámetro craneal y abdominal de los fetos al d 57 de preñez<sup>(10)</sup>. Otros estudios no reportaron efectos de restricción nutricional periconcepcional sobre características del crecimiento fetal al d 45 y 55 de gestación en ovejas Merino Australianas<sup>(11)</sup> y Rahnani<sup>(12)</sup>, respectivamente.

Considerando que la disponibilidad de información es limitada y contradictoria en relación al efecto que tiene la restricción nutricional pre-empadre y/o post-concepción sobre el desarrollo fetal al final del primer tercio de gestación, se requiere seguir estudiando en relación a este tópico. Cabe mencionar que en ovinos de raza de pelo no se han hecho estudios al respecto, a pesar de que estas razas actualmente se encuentran distribuidas por todos México y, en general, en Latinoamérica bajo sistemas de producción extensivas principalmente. Es ampliamente conocido que la disponibilidad de alimento bajo sistemas extensivos depende de la época de lluvias, por lo cual los ovinos con frecuencia se enfrentan a problemas de alimentación deficiente. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la restricción nutricional durante el pre-empadre y primer tercio de gestación sobre el estado corporal materno y desarrollo fetal al d 50 de gestación en ovejas de pelo.

### **3.4. Materiales y métodos**

#### **3.4.1. Animales y tratamientos**

El estudio se realizó en otoño del 2014 y se usaron 48 ovejas multíparas del genotipo Katahdin x Pelibuey, las cuales tenía un peso vivo (PV) de  $50.3 \pm 0.6$  kg y una condición corporal (CC) de  $3.0 \pm 0.05$  (1= muy flacas y 5 muy gordas)<sup>(13)</sup>. Las ovejas se pesaron al inicio del experimento y se asignaron bajo un diseño de bloques completamente al azar a uno de cuatro tratamientos (n= 12), donde el PV fue usado como factor de bloqueo. Los tratamientos consistieron en alimentar adecuadamente a las ovejas durante el pre-empadre (-30 a 0 d antes del empadre) y el primer tercio de gestación (1 a 50 d después de la concepción) alternando periodos de 40% de restricción de consumo de materia seca. Los tratamientos fueron los siguientes: ovejas no restringidas (testigo, TT), ovejas restringidas en todo el periodo experimental (RR), ovejas restringidas en el pre-empadre (RT) y ovejas restringidas en el primer tercio de gestación (TR). Se estableció el nivel materia seca a ofrecer acorde al PV promedio de cada grupo de ovejas. Todas las ovejas se pesaron individualmente cada 10 d para hacer los ajustes respectivos en el consumo de materia seca siguiendo los esquemas de cada tratamiento (Figura 1).

En general se formularon dos dietas, una para pre-empadre y otra para primer tercio de gestación, basado en los requerimientos indicados en el NRC<sup>(14)</sup>. Se tomaron

muestras de 250 g de las dietas cada vez que se mezclaron los ingredientes, las cuales fueron secadas a 60° C por 48 h. Al final del periodo experimental, se molieron y se mezclaron todas las muestras de alimento colectadas antes del empadre para tomar una sub-muestra de 200 g. Mismo procedimiento se realizó para obtener la sub-muestra el periodo post-concepción. Cada sub-muestra se sometió a análisis proximal<sup>(15)</sup> y de fibra detergente neutro<sup>(16)</sup>. También se calculó nutrientes digestibles totales<sup>(17)</sup> y energía digestible<sup>(18)</sup> para obtener el valor de la energía metabolizable<sup>(18)</sup>.

El final del periodo pre-empadre e inicio del primer tercio de gestación en las ovejas, se sincronizó a través de un protocolo de sincronización de estro en combinación de un sistema de montas controladas. El protocolo duró 10 d (d -11 a -1 pre-empadre) y las montas naturales se realizaron entre las 12 y 36 h después de finalizado dicho protocolo (d 0). En general, el protocolo de sincronización de estro (esponjas intravaginales y 200 UI gonadotropina coriónica equina) y el sistema de montas controladas (dos montas/oveja) se realizaron siguiendo una metodología descrita en otro estudio<sup>(19)</sup>. Las montas se realizaron usando 6 machos de la raza Dorper blanco, y cada macho no sirvió más de 10 hembras. Cabe señalar que el 96% de las ovejas respondieron al tratamiento hormonal y fueron montadas.

### **3.4.2. Instalaciones y manejo de los animales**

El estudio se realizó en la Unidad Experimental Ovina del Instituto de Ciencias Agrícolas, UABC, localizada en el Valle de Mexicali, Baja California, México (32.8° latitud norte y 114° longitud oeste). Las ovejas experimentales se alojaron en 4 corrales (5.0 X 5.0 m), uno por tratamiento, los cuales estaban equipados con comederos, bebederos y sombra. Los espacios en comederos fueron suficientes para que todas las ovejas consumieran alimento al mismo tiempo, y de esta manera reducir la competencia. También, diariamente se ofreció alimento en la mañana (7:00 h; 60%) y en la tarde (17:00 h; 40%) acorde a los esquemas de tratamientos. El agua se ofreció a libre acceso, además, diariamente se verificó visualmente el estado de salud de las ovejas.

### **3.4.3. Mediciones en ovejas y fetos**

El PV y la CC de las ovejas se registró individualmente el d -30, 0 y 50 del periodo experimental. El PV se midió usando una báscula electrónica de plataforma con corral, mientras que la CC se evaluó usando la escala del 1 (muy flacas) al 5 (muy gordas)<sup>(13)</sup>. Con esta información se calculó los cambios de peso y condición corporal en los siguientes periodos: pre-empadre, primer tercio de gestación y ambos periodos de restricción.

Por otra parte, todas las ovejas fueron sometidas a diagnóstico de gestación por ultrasonografía el d 30 post-empadre, resultando 100% de ovejas gestantes. Adicionalmente, por ultrasonografía se realizaron mediciones de vesícula, feto y cotiledones siguiendo una metodología descrita previamente<sup>(20)</sup>. En vesícula y cotiledones se midió largo, ancho y área, mientras que en feto se midió longitud cráneo-caudal, área fetal, longitud occipital-nasal, longitud frontal, área de la cabeza, así como largo, ancho y área abdominal. Se tomaron imágenes de un feto y seis cotiledones por oveja para hacer las mediciones. Un ultrasonido equipado con un transductor rectal multifrecuencial de 3.5/7.5 MHz (LCD Ultrasound Scanner, Draminski Animal profi) fue utilizado para hacer las diferentes evaluaciones. Cabe mencionar que se detectaron siete ovejas con pérdida fetal al d 50 de gestación, por lo cual, las evaluaciones de desarrollo fetal se hicieron a 10, 10, 8 y 11 ovejas RR, TT, RT y TR, respectivamente.

### **3.4.4. Análisis estadístico**

Toda la información se sometió a un análisis de varianza bajo un diseño de bloques completamente al azar, usando el procedimiento GLM de SAS<sup>(21)</sup>. Los modelos relacionados con PV y CC incluyeron los efectos de bloque, régimen de alimentación, días o periodo y la interacción régimen de alimentación x días o periodo. El modelo de las variables de vesícula, feto y cotiledones incluyó los efectos fijos de bloque y régimen de alimentación, asimismo, se incluyó el número de fetos como covariable. Las comparaciones de medias fueron realizadas con la opción LSMEANS/PDIFF del SAS a una  $P \leq 0.05$ . Adicionalmente, se realizó un análisis de correlación de Pearson por tratamiento entre los cambios de peso vivo de cada periodo y las variables de desarrollo

fetal. Un análisis de regresión lineal simple también se aplicó a variables que se correlacionaron a una  $P \leq 0.05$ .

### 3.5. Resultados

La interacción régimen de alimentación x día afectó ( $P < 0.01$ ) el PV y la CC (Figura 1). El PV y la CC fueron similares ( $P > 0.05$ ) entre grupo de ovejas tratadas al inicio del experimento (d 30 pre-empadre), pero después de 30 d de ofrecer los regímenes de alimentación (d 0= empadre), las ovejas TT y TR presentaron mayor ( $P < 0.01$ ) PV y CC que las ovejas RR y RT; sin embargo, al d 50 post-empadre las ovejas TT y RT fueron más pesadas y presentaron mayor ( $P < 0.01$ ) CC comparado con las ovejas RR y TR.

En general, todas las ovejas perdieron PV y CC independientemente del régimen de alimentación después de los 80 d de periodo experimental, aunque en ovejas RR y TR fueron más marcadas ( $P < 0.01$ ) las pérdidas que en ovejas TT y RT (Cuadro 2). Cabe mencionar que, las ovejas RR y RT perdieron mayor ( $P < 0.05$ ) PV (2.3 vs.  $6.0 \pm 0.5$  kg) y CC (0.3 vs.  $0.07 \pm 0.05$  unidades) que las ovejas TT y TR en el periodo pre-empadre. En el periodo primer tercio de gestación, la ovejas TT y RT ganaron peso siendo mayor ( $P < 0.01$ ) la ganancia en RT (0.8 vs.  $4.5 \pm 0.5$  kg), mientras que las ovejas RR y TR perdieron peso siendo más marcada ( $P < 0.05$ ) la pérdida en ovejas TR (2.1 vs.  $5.5 \pm 0.5$  kg). En el caso de los cambios en CC post-concepción, se observó una similar ( $P > 0.05$ ) disminución ( $0.35 \pm 0.09$  unidades) en las ovejas RR y TR, mientras que en ovejas TT y RT aumentó, siendo este incremento mayor ( $P < 0.01$ ) en ovejas RT (0.02 vs.  $0.2 \pm 0.09$  unidades).

La vesícula fetal (62.5 vs.  $75.2 \pm 3.0$  mm) y el abdomen del feto (29.3 vs.  $33.4 \pm 1.7$  mm) fueron más largos ( $P < 0.05$ ) en ovejas RT que en las ovejas tratadas con los otros regímenes de alimentación al d 50 de post-concepción (Cuadro 3). Las ovejas RT también presentaron mayor ( $P < 0.05$ ) área vesicular (21.1 vs.  $25.3 \pm 1.5$  mm<sup>2</sup>), abdominal (4.0 vs.  $5.0 \pm 0.2$  mm<sup>2</sup>) y de feto (7.2 vs.  $9.0 \pm 0.5$  mm<sup>2</sup>) comparado con las ovejas TT, RR y TR. No obstante, entre ovejas TT, RR y TR no se detectaron diferencias ( $P > 0.05$ ) para largo y área de vesícula y abdomen del feto, así como para área de feto. Los fetos de ovejas RT en relación a los de ovejas TT tuvieron mayor ( $P < 0.05$ ) longitud cráneo-caudal (54.3 vs.  $59.4 \pm 1.5$  cm). Adicionalmente, los fetos de ovejas RR y TR mostraron similar ( $P >$

0.05) longitud cráneo-caudal que los fetos de ovejas TT y RT. Tanto el ancho de la vesícula fetal como el resto de las mediciones fetales no fueron afectadas ( $P > 0.05$ ) por el régimen de alimentación. El desarrollo cotiledonario tampoco fue afectado ( $P > 0.05$ ) por la alimentación ofrecida alrededor de la concepción.

No se encontró significancia ( $P > 0.05$ ) en la mayoría de las correlaciones entre los cambios de peso del pre-empadre, primer tercio de gestación y periodo total con las mediciones vesiculares y del feto (longitud cráneo caudal, área fetal, longitud occipital nasal, longitud frontal, área de cabeza y rasgos abdominales) al d 50 de gestación, por lo cual solamente se describen a continuación las correlaciones significativas para cada tratamiento (Cuadro 4). Las ovejas TT solamente mostraron una correlación positiva ( $P < 0.05$ ;  $r = 0.59$ ) entre la pérdida de PV en el pre-empadre y el largo vesicular, mientras que las ovejas RR correlacionaron positivamente ( $P < 0.05$ ) la pérdida de PV durante el primer tercio de gestación con la longitud occipital-nasal ( $r=0.61$ ) y frontal ( $r=0.61$ ). En el caso de ovejas RT, la pérdida de PV en el pre-empadre se correlacionó positivamente ( $P < 0.05$ ) con el área fetal ( $r = 0.70$ ), así como con el largo ( $r = 0.66$ ) y ancho abdominal ( $r = 0.68$ ) del feto. También en esas ovejas se observó que la ganancia de PV durante el primer tercio de gestación tuvo una correlación positiva ( $P < 0.05$ ) con el área de cabeza, asimismo con el largo ( $r = 0.68$ ) y ancho ( $r = 0.67$ ) del abdomen fetal. En ovejas TR ninguna correlación fue significativa ( $P > 0.05$ ). En general, todas las correlaciones significativas se clasificaron como moderadas.

El análisis de regresión lineal simple corroboró parcialmente los resultados de las correlaciones significativas encontradas para cada tratamiento (Cuadro 5). Se observó que la longitud occipital-nasal y frontal de los fetos en ovejas RR aumentó ( $P = 0.05$ ) como las pérdidas de PV en el periodo pre-empadre incrementaron. En ovejas RT, el área de feto incrementó ( $P = 0.05$ ) y el largo de abdomen tendió a incrementar ( $P = 0.07$ ) como las pérdidas de PV aumentaron en el periodo pre-destetes. En estas ovejas también se encontró que el área de cabeza ( $P = 0.08$ ) y el largo ( $P = 0.06$ ) y ancho abdominal ( $P = 0.07$ ) tendieron a aumentar por el incremento de PV en el primer tercio de gestación. Finalmente, el largo de vesícula tendió a aumentar ( $P = 0.07$ ) con el aumento en las pérdidas de PV en el periodo pre-empadre.

### 3.6. Discusión

En la literatura existe suficiente evidencia en relación al impacto negativo que tiene la restricción nutricional en el pre-empadre<sup>(11,22,23)</sup> y primer tercio de gestación<sup>(6,24)</sup> sobre el estado corporal de las ovejas; situación que es explicada por una movilización de reservas corporales como una estrategia para compensar el déficit nutricional dietario<sup>(14,25)</sup>. Además, se ha reportado que estas ovejas alimentadas por debajo de los requerimientos nutricionales de mantenimiento y producción pueden recuperar rápidamente su estado corporal normal cuando se realimentan con un nivel de alimentación adecuado<sup>(5,7)</sup>. Por lo tanto, esto explica, en términos generales, los cambios de PV y CC observado en las ovejas a través de los esquemas de 40% de restricción nutricional a los que fueron sometidos en el pre-empadre y primer tercio de gestación.

Los resultados de cambios de estado corporal muestran que las ovejas de pelo, tal como en otras razas se ha observado, tienen la capacidad de activar mecanismos adaptativos frente a escenarios de restricción nutricional crónicos. Las ovejas RR, restringidas en el pre-empadre y primer tercio de gestación, perdieron similar cantidad de PV y CC al final del experimento que las ovejas restringidas solamente en los 50 d post-concepción. Adicionalmente, se destaca que las ovejas RR presentaron una pérdida de PV de 73.4% en el pre-empadre y 26.6% en el primer tercio de gestación, aun cuando en ambos periodos el régimen de restricción nutricional fue el mismo (40%). En el caso de ovejas TR, se observó que 70.5% del PV perdido durante el estudio fue en los 50 días de exposición a restricción nutricional. Por lo tanto, estos resultados sugieren que las ovejas RR, las cuales fueron tratadas crónicamente con restricción nutricional, hicieron ajustes fisiológicos, metabólicos y endocrinológicos después del periodo de pre-empadre (30 d) para hacer un uso más eficiente de la energía consumida al mismo tiempo que redujo en lo posible la movilización de reservas corporales. Posiblemente, los ajustes en las ovejas RR se hicieron más evidentes después de la concepción, como una respuesta para mantener la gestación y contar con suficiente sustrato energético para la nutrición embrionaria-fetal.

Congruente con lo anterior, en ovinos sometidos a programas de restricción crónica se ha observado los siguientes ajustes para mejorar la disponibilidad y uso de energía: 1) los niveles de leptina descienden incitando a los centros del apetito a disminuir la

expedición de energía<sup>(26)</sup>; 2) disminuye el uso de energía e incrementa el reciclaje de nitrógeno para favorecer la eficiencia alimenticia<sup>(27)</sup> y 3) incrementa la tasa de masticación y disminuye la tasa de pasaje para incrementar la digestibilidad del alimento consumido y la síntesis de compuestos proteicos y energéticos por la microflora del rumen<sup>(28)</sup>.

Por otra parte, bastante investigación se ha desarrollado para dilucidar el efecto de la restricción nutricional periconcepcional sobre el desarrollo folicular<sup>(29,30)</sup>, embrionario temprano<sup>(23)</sup> y fetal tardío<sup>(31,32)</sup>, así como en la vida post-natal de las crías<sup>(33,34)</sup> en ovejas de raza de lana. Sin embargo, poco se ha estudiado el desarrollo fetal al final del primer tercio de gestación por efecto de la restricción nutricional severa que reciben las ovejas desde el pre-empadre y primeros 50 d post-concepción. Los resultados de este estudio demuestran que, en ovejas de pelo, el crecimiento fetal al d 50 de gestación es alterado por una restricción nutricional severa durante los 30 d previos al empadre. Aunque estas alteraciones en crecimiento fetal no se evidenciaron cuando la restricción nutricional coincidió con los 50 d post-concepción o fue de tipo crónica desde 30 d antes del empadre hasta los 50 d después de la concepción. Acorde con estos resultados, en ovejas Rahmani y Barki encontraron similar longitud cráneo-caudal al final del primer tercio de gestación entre ovejas no restringidas y restringidas al 70% durante los primeros 45 días de preñez<sup>(12)</sup>. Similarmente, en otro estudio reportaron que una restricción nutricional severa (50%) durante los primeros 30 d post-concepción, no afectó el crecimiento fetal al d 70 de preñez, ya que longitud cráneo-caudal, circunferencia abdominal, longitud del fémur y diámetro biparietal fueron similar entre ovejas testigo y restringidas<sup>(6)</sup>.

En general, las ovejas restringidas nutricionalmente en el pre-empadre presentaron una vesícula y un feto más grande al final del primer tercio de gestación. Además, los fetos de estas ovejas exhibieron una mayor área abdominal. Contrario a estos resultados, en ovejas Romney sometidas a restricción nutricional pre-empadre (60 d), post-empadre (30 d) o ambas, reportaron que la restricción antes del empadre afectó negativamente el desarrollo fetal y la resistencia a insulina de las madres<sup>(32)</sup>. También indicaron que las pérdidas de PV del pre-empadre se correlacionaron negativamente con la sensibilidad a insulina, y por consecuencia, con el crecimiento fetal. Los autores concluyeron que el bajo crecimiento fetal se debió a la incapacidad de la madre para adaptar adecuadamente su

metabolismo relacionado con insulina. Otros estudios también han señalado que la restricción nutricional en la pre-concepción modifica la programación embrionaria, y subsecuentemente la fetal, reflejándose muchas veces cambios en el trayecto del crecimiento fetal, o bien, en un menor crecimiento y desarrollo fetal<sup>(4,5)</sup>. Así, una baja alimentación durante la foliculogénesis y maduración del ovocito ha mostrado alterar la transcripción de algunos genes relacionados con la actividad metabólica, específicamente la reducción de transportadores de glucosa (SLC2A3, SLC5A1) e incrementos en los receptores PTGS2, HAS2 y de leptina<sup>(29)</sup>. Aunque, al parecer, este fenómeno no fue evidente en las ovejas de este estudio, dado que el crecimiento fetal no disminuyó.

Cabe aclarar que no se encontró una explicación precisa de porque las ovejas de pelo restringidas en el pre-empadre mejoraron el crecimiento fetal al final del primer tercio de gestación comparado con las otras ovejas tratadas. No obstante, el análisis de regresión lineal simple y de correlación sugiere que el nivel de pérdida de PV en el pre-empadre y el incremento en la ganancia de PV durante los 50 d post-concepción, jugaron un papel clave para que los fetos de estas ovejas fueran superiores en crecimiento. En las ovejas RT, la mayor área de masa fetal se asoció positivamente con las pérdidas de PV pre-empadre, mientras que el mayor tamaño abdominal de los fetos se relacionó positivamente tanto con las pérdidas de PV pre-empadre como con las ganancias de PV post-concepción. En los otros tratamientos (RR, TR y TT), no se encontró una correlación entre los cambios de PV pre- y post-concepción con las mediciones relacionadas directamente con el crecimiento fetal o desarrollo abdominal.

Por lo tanto, considerando que los ovinos de razas de pelo son rústicos y tienen gran habilidad para adaptarse a condiciones de estrés ambiental y nutricional sin comprometer drásticamente su capacidad reproductiva<sup>(35,36)</sup>, en este estudio se plantearon dos hipótesis que se complementan para dar respuesta a los resultados encontrados en ovejas sometidas a restringidas nutricionalmente en el pre-empadre: 1) las ovejas de pelo activan mecanismos adaptativos para priorizar la dirección de nutrientes hacia el producto en dado caso de quedar preñadas cuando el escenario nutricional es deficiente, lo cual permite al feto tener un crecimiento acelerado y almacenar sustratos energéticos en la vesícula por si el grado de desnutrición en la oveja se convierte muy severa; y 2) el mecanismo adaptativo descrito previamente no fue

desactivado por estas oveja en el primer tercio de gestación, o al menos en un corto plazo post-concepción, a pesar de que fueron regresadas a un régimen de alimentación adecuado después del empadre. Así, una alta cantidad de nutrientes dirigidos hacia el embrión-feto promovió un mayor crecimiento de la vesícula fetal para hacer más eficiente la captación y almacenamiento de sustratos nutricionales. Vesículas de mayor tamaño se han relacionado positivamente con un incremento en el metabolismo intestinal, y con ello fetos de mayor tamaño que presentan un abdomen más grande<sup>(37,38)</sup>. El hecho que en ovejas RR no presentará un incremento en el crecimiento fetal al final del primer tercio de gestación como en ovejas RT, demuestra la importancia que tienen alimentar a las ovejas adecuadamente durante la gestación temprana cuando ellas estuvieron expuestas a un plan de desnutrición antes y durante el empadre.

Por otra parte, el tamaño de los cotiledones no se afectó por la restricción nutricional inducida en las ovejas de pelo durante el pre-empadre y/o primer tercio de gestación. Estos resultados se atribuyeron a que la medición de estas estructuras coincidió con el desarrollo temprano de la placenta<sup>(39)</sup>.

### **3.7. Conclusión e implicaciones**

En ovejas de pelo, la restricción nutricional en el pre-empadre y/o primer tercio de gestación provoca pérdidas evidentes de peso y condición corporal, las cuales recobra rápidamente al ofrecerles una cantidad y calidad de dieta adecuada para su estado fisiológico. Sin embargo, la exposición de las ovejas a un periodo de restricción nutricional pre-empadre favorece el desarrollo de fetos de mayor talla y con abdómenes más grandes; situación que podría tener un impacto negativo sobre el desarrollo y crecimiento post-natal de las crías por alterar la trayectoria de crecimiento fetal.

### 3.8. Literatura citada

1. Martin GB, Rodger J, Blache D. Nutritional and environmental effects on reproduction in small ruminants. *Reprod Fertil Dev* 2004;16(4):491-501.
2. Lassoued N, Rekik M, Mahouachi M, Ben Hamouda M. The effect of nutrition prior to and during mating on ovulation rate, reproductive wastage, and lambing rate in three sheep breeds. *Small Ruminant Res* 2004;52(1-2):117-125.
3. Corner-Thomas RA, Hickson RE, Morris ST, Kenyon PR. The influences of live weight and body condition score of ewe lambs from breeding to lambing on live weight of their singleton lambs to weaning. *Small Ruminant Res* 2014;119(1-3):16-21.
4. Rumball CWH, Bloomfield FH, Oliver MH, Harding JE. Different periods of periconceptional undernutrition have different effects on growth, metabolic and endocrine status in fetal sheep. *Pediatr Res* 2009;66(6):605-613.
5. Belkacemi L, Nelson DM, Desai M, Ross MG. Maternal undernutrition influences placental-fetal development. *Biol Reprod* 2010;83(3):325-31.
6. Cleal JK, Poore KR, Boullin JP, Khan O, Chau R, Hambidge O, Torrens C, Newman JP, Poston L, Noakes DE, Hanson MA, Green LR. Mismatched pre- and postnatal nutrition leads to cardiovascular dysfunction and altered renal function in adulthood. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104(22):9529-9533.
7. Ashworth CJ, Toma LM, Hunter MG. Nutritional effects on oocyte and embryo development in mammals: implications for reproductive efficiency and environmental sustainability. *Phil Trans R Soc B* 2009;364(1534):3351-3361.
8. Fleming TP, Velazquez MA, Eckert JJ, Lucas ES, Watkins AJ. Nutrition of females during the peri-conceptional period and effects on foetal programming and health of offspring. *Anim Reprod Sci* 2012;130(3-4):193-197.
9. Sejian V, Maurya VP, Naqvi SMK, Kumar D, Joshi A. Effect of induced body condition score differences on physiological response, productive and reproductive performance of Malpura ewes kept in a hot, semi-arid environment. *J Anim Physiol Anim Nutr* 2010;94(2):154-61.
10. Muñoz C, Carson AF, McCoy MA, Dawson LER, O'Connell NE, Gordon AW. Nutritional status of adult ewes during early and mid-pregnancy. 1. Effects of plane of

- nutrition on ewe reproduction and offspring performance to weaning. *Animal* 2008;2(1):52-63.
11. MacLaughlin SM, Walker SK, Roberts CT, Kleemann DO, McMillen IC. Periconceptional nutrition and the relationship between maternal body weight in the periconceptional period and feto-placental growth in the sheep. *J Physiol* 2005;565(1):111-124.
  12. Abdel-Mageed II, El-Gawad MHA. Does parity and nutrition in early pregnancy affect viability of embryos in both Rahmani and Barki Egyptian Sheep?. *Asian J Anim Vet Adv* 2015;10(1):25-34.
  13. Russel AJF, Doney JM, Gunn RJ. Subjective assessment of body fat in live sheep. *J Agric Sci* 1969;72(3):451-454.
  14. NRC. Nutrient Requirements of Small Ruminants: sheep, goats, cervids, and new world camelids. Natl. Acad. Press, Washington, DC. 2007.
  15. AOAC, Official Methods of Analysis, fifth edition, AOAC (Association Official Analytical Chemists) INC., Arlington, Virginia, U.S.A. 1990.
  16. Van Soe, PJ, Robertson JB, Lewis BA. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci* 1991;74:3583-3597.
  17. Cappelle ER, Valadares FS de C, Silva JFC, Cecon PR. Estimativas do valor energético a partir de características químicas e bromatológicas dos alimentos. *Rev Bras Zoot* 2001;30:1837-1856.
  18. NRC. Nutrient requirements of Sheep. 6th ed. National Academy Press, Washington, D.C., USA. NRC. 1985.
  19. Macías-Cruz U, Ponce-Covarrubias JL, Álvarez-Valenzuela FD., Correa-Calderón A, Meza-Herrera CA, Avendaño-Reyes L. Reproductive efficiency of Pelibuey and Romanov x Pelibuey ewes synchronized with synthetic progesterone and low doses of PMSG under a hot environment. *Czech J Anim Sci* 2013;58(12):546-553.
  20. Ali A, Hayder M. Ultrasonographic assessment of embryonic, fetal and placental development in Ossimi sheep. *Small Ruminant Res* 2007;73(1-3):277-282.
  21. SAS INSTITUTE, SAS/STAT. 2004. User's guide statistics released 9.1, 2nd Ed. SAS Institute, Inc. Cary, NC, USA.

22. Borowczyk E, Caton JS, Redmer DA, Bilski JJ, Weigl RM, Vonnahme KA, Borowicz PP, Kirsch JD, Kraft KC, Reynolds LP, Grazul-Bilska AT. Effects of plane of nutrition on in vitro fertilisation and early embryonic development in sheep. *J Anim Sci* 2006;84(6):1593-1599.
23. Grazul-Bilska AT, Johnson ML, Borowicz PP, Baranko L, Redmer DA, Reynolds LP. Placental development during early pregnancy in sheep: effects of embryo origin on fetal and placental growth and global methylation. *Theriogenology* 2013;79(1):94-102.
24. Steyn C, Hawkins P, Saito T, Noakes DE, Kingdom JCP, Hanson MA. Undernutrition during the first half of gestation increases the predominance of fetal tissue in late-gestation ovine placentomes. *European J Obstetrics Gynecol Reprod Biol* 2001;98(2): 165-170.
25. Robertson SM, Clayton EH, Friend MA. Reproductive performance of ewes grazing Lucerne during different periods around mating. *Anim Reprod Sci* 2015;162:62-72.
26. Chillard Y, Bocquier F, Doreau M. Digestive and metabolic adaptations on ruminants to undernutrition, and consequences on reproduction. *Reprod Nutr Dev* 1998;38(2):131-152.
27. Boland MP, Lonergan P, O'Callaghan D. Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, and oocyte and embryo development. *Theriogenology* 2001;55(6):1323-1340.
28. Galvani DB, Pires CC, Wommer TP, Oliviera F, Santos MF. Chewing patterns and digestion in sheep submitted to feed restriction. *J Anim Physiol Anim Nutr* 2010;94(6):e366-e373.
29. Pisani LF, Antonini S, Pocar P, Ferrari S, Brevini TAL, Rhind SM, Gandolfi F. Effects of pre-mating nutrition on mRNA levels of developmentally relevant genes in sheep oocytes and granulosa cells. *Reproduction* 2008;136(3):303-312.
30. Grazul-Bilska AT, Borowczyk E, Bilski JJ, Reynolds LP, Redmer DA, Caton JS, Vonnahme KA. Overfeeding and underfeeding have detrimental effects on oocyte quality measured by in vitro fertilization and early embryonic development in sheep. *Domest Anim Endocrinol* 2012;43(4):289-98.

31. Bloomfield FH, Oliver MH, Hawkins P, Holloway AC, Campbell M, Gluckman PD, Harding JE, Challis JR. Periconceptional undernutrition in sheep accelerates maturation of the fetal hypothalamic-pituitary-adrenal axis in late gestation. *Endocrinology* 2004;145(9):4278-85.
32. Jaquiery AL, Oliver MH, Rumball CWH, Bloomfield FH, Harding JE. Undernutrition before mating in ewes impairs the development of insulin resistance during pregnancy. *Obstet Gynecol* 2009;114(1):869-76.
33. Todd SE, Oliver MH, Jaquiery AL, Bloomfield FH, Harding JE. Periconceptional undernutrition of ewes impairs glucose tolerance in their adult offspring. *Pediatr Res* 2009;65(4):409-13.
34. Debus N, Chavatte-Palmer P, Viudes G, Camous S, Roséfort A, Hassoun P. Maternal periconceptional undernutrition in Merinos d Arles sheep: 1. Effects on pregnancy and reproduction results of dams and offspring growth performance. *Theriogenology* 2012;77(7):1453-1465.
35. Macías-Cruz U, Álvarez-Valenzuela FD, Correa-Calderón A, Díaz-Molina R, Mellado M, Meza-Herrea CA, Avendaño-Reyes L. Thermoregulation of nutrient-restricted hair ewes subjected to heat stress during late pregnancy. *J Therm Biol* 2013;38(1):1-9.
36. Macías-Cruz U, Gastélum MA, Álvarez FD, Correa A, Díaz R, Meza-Herrera CA, Mellado M, Avendaño-Reyes L. Effects of summer heat stress on physiological variables, ovulation and progesterone secretion in Pelibuey ewes under natural outdoor conditions in an arid region. *Anim Sci J* en prensa.
37. Underwood MA, Gilbert WM, Sherman MP. Amniotic fluid: not just fetal urine anymore. *J Perinatol* 2005;25:341-348.
38. Kwon H, Ford SP, Bazer FW, Spencer TE, Nathanielsz PW, Nijland MJ, Hess BW, Wu G. Maternal nutrient restriction reduces concentrations of amino acids and polyamines in ovine maternal and fetal plasma and fetal fluids. *Biol Reprod* 2004;71(3):901-908.
39. Osgerby JC, Wathes DC, Howard D, Gadd TS. The effect of maternal undernutrition on ovine fetal growth. *J Endocrinol* 2002;173(1):131-141.

### 3.9. Tablas y figuras

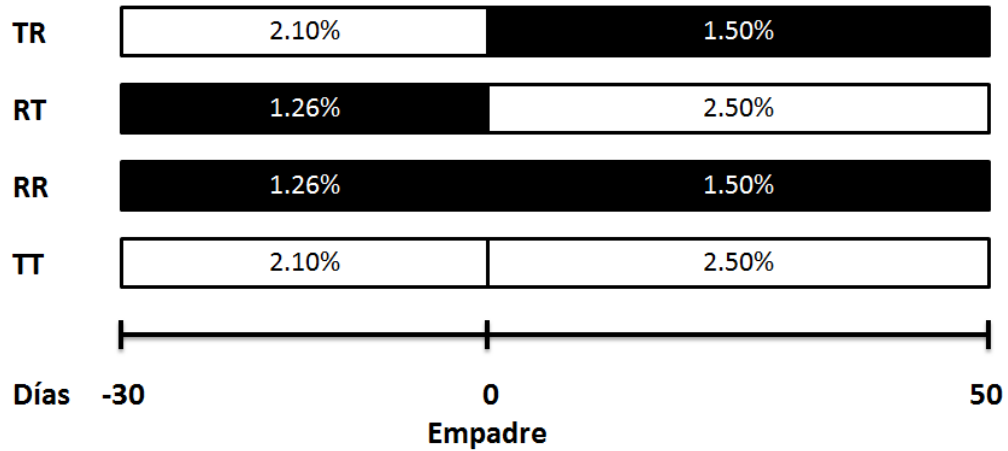
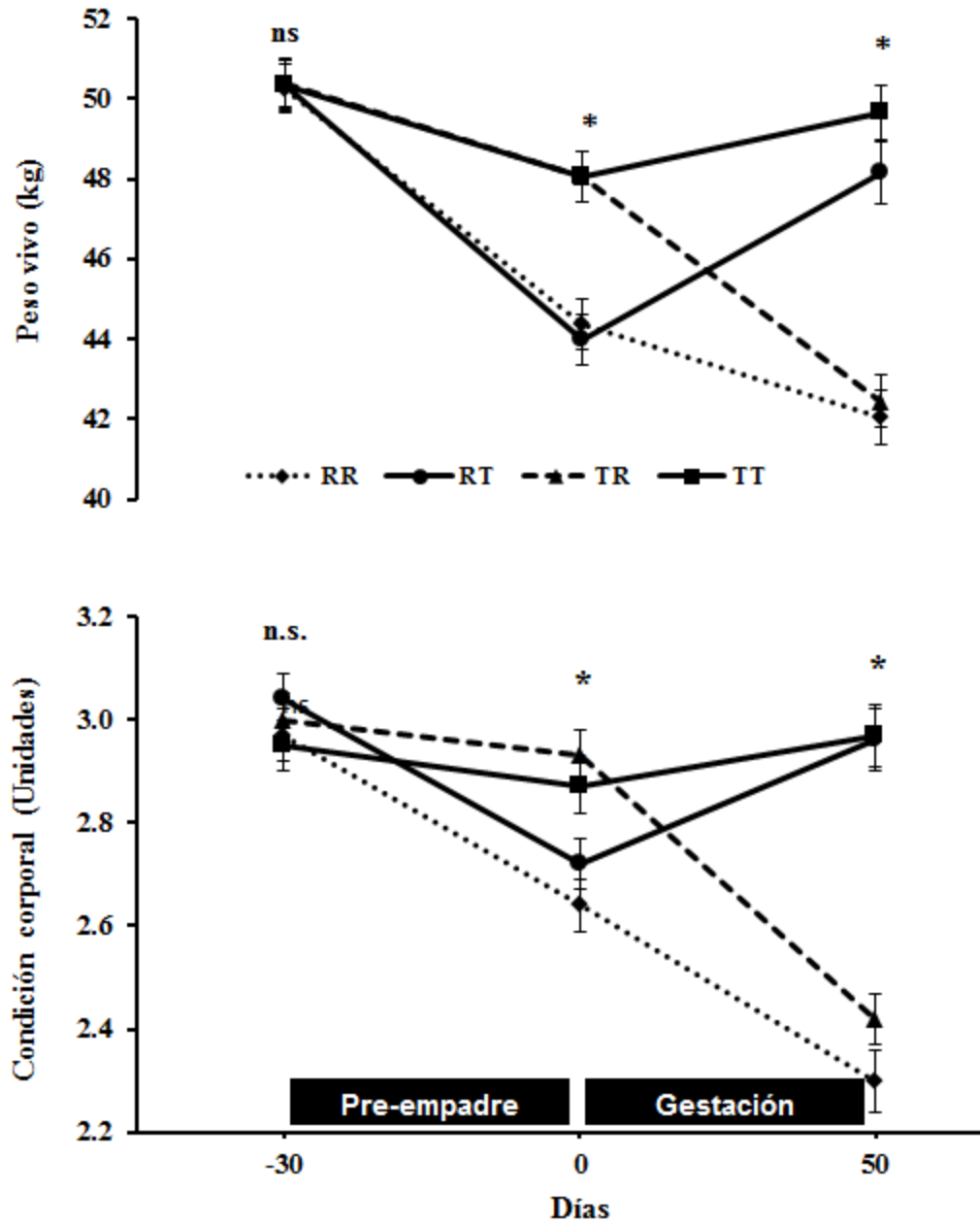


Figura 1. Esquemas de alimentación basado en el porcentaje del peso vivo para ovejas no restringidas (TT) y restringidas totalmente (RR), durante la pre-concepción (RT) o primer tercio de gestación (TR). La cantidad de materia seca ofrecida en base al peso vivo en oveja TT se calculó como indica el NRC (2007).

**Tabla 1.** Ingredientes y composición de las dietas experimentales.

	Pre-empadre	Post-concepción (50 d)
Ingredientes		
Heno de sudan (%)	85.0	80.0
Heno de Alfalfa (%)	15.0	20.0
Composición química		
Materia seca (%)	92.2	92.3
Proteína cruda (%)	8.5	9.0
Ceniza (%)	13.5	13.8
Extracto etéreo (%)	1.21	1.16
Fibra detergente neutra (%)	61.3	64.2
NDT (%)	56.0	54.3
ED (Mcal/ kg MS)	2.5	2.4
EM (Mcal/Kg MS)	2.0	2.0

NDT= Nutrientes digestibles totales; ED= Energía digestible; EM= Energía metabolizable, MS= Materia seca



**Figura 2.** Peso vivo y condición corporal en ovejas alimentadas adecuadamente (TT) o restringidamente durante la pre-concepción (RT), primer tercio de gestación (TR) o ambos periodos (RR). Diferencias (\*  $P \leq 0.05$ ) o no (n.s.) entre tratamientos dentro de cada día de muestreo.

**Tabla 2.** Cambios de peso vivo y condición corporal antes de la concepción, primer tercio de gestación o ambos periodos por efecto de la restricción nutricional en ovejas de pelo.

Variables	Tratamientos				EE
	RR	RT	TR	TT	
<b>Cambio de peso vivo (kg)</b>					
Pre-empadre	-5.8 <sup>a</sup>	-6.3 <sup>a</sup>	-2.3 <sup>b</sup>	-2.3 <sup>b</sup>	0.5
1er tercio de gestación	-2.1 <sup>a</sup>	4.5 <sup>b</sup>	-5.5 <sup>c</sup>	0.8 <sup>d</sup>	0.5
Periodo total	-8.1 <sup>a</sup>	-1.8 <sup>b</sup>	-7.7 <sup>a</sup>	-1.5 <sup>b</sup>	0.9
<b>Cambio de condición corporal (Unidades)</b>					
Pre-empadre	-0.3 <sup>a</sup>	-0.3 <sup>a</sup>	-0.06 <sup>b</sup>	-0.08 <sup>b</sup>	0.05
1er tercio de gestación	-0.3 <sup>a</sup>	0.2 <sup>b</sup>	-0.4 <sup>a</sup>	0.02 <sup>c</sup>	0.09
Periodo total	-0.6 <sup>a</sup>	-0.05 <sup>b</sup>	-0.5 <sup>a</sup>	-0.01 <sup>b</sup>	0.09

Ninguna restricción nutricional (TT) y restricción nutricional pre-empadre (RT), primer tercio de gestación (TR) o ambos periodos (RR).

Letras diferentes en la misma hilera indican diferencias a  $P < 0.05$ .

**Tabla 3.** Desarrollo vesicular, fetal y cotiledonario por efecto de la restricción nutricional en ovejas de pelo.

Variables	Tratamiento				
	RR	RT	TR	TT	EE
Fetos (n)	10	8	11	10	
Vesícula amniótica					
Largo (mm)	60.4 <sup>a</sup>	75.2 <sup>b</sup>	62.6 <sup>a</sup>	64.6 <sup>a</sup>	3.0
Ancho (mm)	44.5 <sup>a</sup>	43.9 <sup>a</sup>	39.7 <sup>a</sup>	40.7 <sup>a</sup>	3.1
Área (mm <sup>2</sup> )	21.0 <sup>a</sup>	25.3 <sup>b</sup>	20.6 <sup>a</sup>	21.7 <sup>a</sup>	1.5
Feto					
Longitud cráneo-caudal (mm)	57.1 <sup>ab</sup>	59.4 <sup>b</sup>	56.2 <sup>ab</sup>	54.3 <sup>a</sup>	1.5
Área fetal (mm <sup>2</sup> )	7.5 <sup>a</sup>	9.0 <sup>b</sup>	7.0 <sup>a</sup>	7.2 <sup>a</sup>	0.5
Longitud occipital-nasal	19.7 <sup>a</sup>	21.8 <sup>a</sup>	21.3 <sup>a</sup>	22.5 <sup>a</sup>	1.2
Longitud frontal (mm)	16.3 <sup>a</sup>	17.5 <sup>a</sup>	16.5 <sup>a</sup>	16.6 <sup>a</sup>	0.6
Área de la cabeza (mm <sup>2</sup> )	2.3 <sup>a</sup>	2.5 <sup>a</sup>	2.5 <sup>a</sup>	2.4 <sup>a</sup>	0.2
Largo del abdomen (mm)	28.4 <sup>a</sup>	33.4 <sup>b</sup>	30.1 <sup>a</sup>	29.4 <sup>a</sup>	1.7
Ancho del abdomen (mm)	17.2 <sup>a</sup>	16.9 <sup>a</sup>	16.4 <sup>a</sup>	17.1 <sup>a</sup>	0.7
Área del abdomen (mm <sup>2</sup> )	4.0 <sup>a</sup>	5.0 <sup>b</sup>	4.0 <sup>a</sup>	4.2 <sup>a</sup>	0.2
Cotiledones					
Largo (mm)	17.6 <sup>a</sup>	16.6 <sup>a</sup>	16.4 <sup>a</sup>	18.3 <sup>a</sup>	0.9
Ancho (mm)	21.3 <sup>a</sup>	19.5 <sup>a</sup>	19.7 <sup>a</sup>	22.3 <sup>a</sup>	1.2
Área (mm <sup>2</sup> )	2.7 <sup>a</sup>	2.3 <sup>a</sup>	2.5 <sup>a</sup>	2.7 <sup>a</sup>	0.2

Ninguna restricción nutricional (TT) y restricción nutricional pre-empadre (RT), primer tercio de gestación (TR) o ambos periodos (RR).

Letras diferentes en la misma hilera indican diferencias a  $P < 0.05$ .

**Tabla 4.** Correlaciones de Pearson entre cambios de peso vivo pre-concepción, primer tercio de gestación o ambos periodos con el desarrollo vesicular y fetal al d 50 de gestación para cada tratamiento.

	Vesícula amniótica			Longitud	Área	Longitud	Longitud	Área	Abdomen		
	Largo	Ancho	Área	C-C	fetal	O-N	frontal	cabeza	Largo	Ancho	Área
RR											
Pre-empadre (-)	0.06	-0.26	-0.16	0.23	0.07	-0.06	-0.23	-0.01	0.36	-0.25	-0.35
1er tercio gestación (-)	-0.22	0.39	0.42	-0.30	0.18	0.61 *	0.61 *	0.47	0.08	-0.01	-0.08
Periodo total (-)	-0.07	-0.03	0.08	0.05	0.18	0.30	0.13	0.27	0.42	-0.26	-0.41
RT											
Pre-empadre (-)	0.19	0.45	0.39	0.13	0.70 *	0.41	-0.22	0.25	0.66 *	0.68 *	0.46
1er tercio gestación (+)	0.53	-0.05	0.13	0.16	0.35	0.28	0.33	0.64 *	0.68 *	0.67*	0.31
Periodo total (-)	-0.17	0.49	0.31	0.05	0.55	0.15	-0.42	-0.17	0.21	0.26	0.35
TR											
Pre-empadre (-)	0.47	-0.21	0.06	-0.16	0.40	0.15	0.32	0.29	-0.05	0.30	-0.14
1er tercio gestación (-)	0.18	-0.34	-0.34	0.09	-0.24	-0.09	0.27	0.20	0.34	-0.49	<0.01
Periodo total (-)	0.49	-0.34	-0.14	-0.18	-0.52	-0.01	0.31	0.24	0.06	-0.05	-0.21
TT											
Pre-empadre (-)	0.59 *	-0.29	0.39	-0.55	0.17	-0.37	0.05	0.19	0.13	-0.26	-0.42
1er tercio gestación (+)	0.54	-0.20	0.24	-0.01	-0.27	0.56	0.18	0.30	<0.01	-0.22	-0.55
Periodo total (-)	0.43	0.23	0.09	-0.26	0.17	0.19	-0.13	0.02	-0.16	0.06	-0.05

Valores de correlaciones sin asterisco indican no significancia a  $P > 0.05$  y con asteriscos indican significancia a  $P \leq 0.05$ .

Cráneo-caudal (C-C), occipital-nasal (O-N), pérdida (-) y ganancia (+) de peso vivo.

Ninguna restricción nutricional (TT) y restricción nutricional pre-empadre (RT), primer tercio de gestación (TR) o ambos periodos (RR).

**Tabla 5.** Análisis de regresión lineal simple de variables correlacionadas en cada tratamiento

Tratamiento	VARIABLES de respuesta	Cambio de peso	Ecuación	$r^2$	N	Valor de P
RR	Longitud occipital-nasal	D 0 a 50	$y=15.25 + 2.10x$	0.38	10	0.05
	Longitud frontal	D 0 a 50	$y=13.71 + 1.12x$	0.38	10	0.05
RT	Área del feto	D -30 a 0	$y=4.50 + 0.68x$	0.50	8	0.05
	Largo del abdomen	D -30 a 0	$y=24.02 + 1.43x$	0.44	8	0.07
	Área de la cabeza	D 0 a 50	$y=2.02 + 0.12x$	0.41	8	0.08
	Largo del abdomen	D 0 a 50	$y=24.31 + 2.16x$	0.46	8	0.06
TT	Ancho del abdomen	D 0 a 50	$y=13.12 + 0.93x$	0.45	8	0.07
	Largo de la vesícula	D -30 a 0	$y=62.66 + 2.36x$	0.35	10	0.07

Ninguna restricción nutricional (TT) y restricción nutricional pre-empadre (RT), o pre-empadre y primer tercio de gestación (RR).

## CAPÍTULO IV. ARTÍCULO 2

### **Undernutrition pre- and post-mating affects serum levels of glucose, cholesterol and progesterone, but not the reproductive efficiency of crossbred hair ewes synchronized for estrus**

(Enviado a Domestic Animal Endocrinology)

#### **4.1. Resumen**

El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de la restricción nutricional pre- y post-empadre sobre las concentraciones de algunos metabolitos y progesterona después de la concepción, así como sobre el comportamiento reproductivo en ovejas de pelo sujetas a un protocolo de sincronización del estro (progesterona más 200 UI de PMSG) y monta natural. El día 30 antes del empadre, 48 ovejas multíparas Katahdin x Pelibuey (PV= 50.3±0.5 kg, CC= 3.0±0.06 unidades) se asignaron bajo un diseño de bloques completamente al azar a cuatro tratamientos (n=12) de restricción nutricional (RN): 1) ninguna RN (testigo), 2) RN pre-empadre (30 d, RNPRE), 3) RN post-empadre (50 d, RNPOS) y 4) RN en ambos periodos (80 d, RNT). Todas las ovejas se alimentaron con la misma dieta pero las ovejas de RN recibieron solo el 60% de la alimentación ofrecida al grupo testigo (alimentadas adecuadamente). En comparación a los otros tratamientos, el PV y la CC al empadre fueron mayores ( $P < 0.01$ ) en las ovejas testigo y RNPOS, pero al d 50 post-empadre fueron mayores ( $P < 0.01$ ) en ovejas testigo y RNPRE. Al parto, las ovejas RNT tuvieron más bajo ( $P = 0.03$ ) PV y CC, mientras las concentraciones séricas de triglicéridos, proteína total y urea no fueron afectados ( $P \geq 0.13$ ) por los tratamientos. También, las concentraciones séricas de glucosa fueron bajas ( $P = 0.03$ ) y las de colesterol altas ( $P = 0.02$ ) en ovejas RNPOS comparado con las ovejas de otros tratamientos. Las concentraciones de progesterona fueron similares ( $P \geq 0.39$ ) entre tratamientos hasta el d 8 post-empadre, después (d 10-20) fueron más altas ( $P \leq 0.05$ ) en ovejas RNPOS y RNT que en las ovejas RNPRE. Conducta de estro, preñez, porcentaje de aborto, largo de gestación, fertilidad, fecundidad y prolificidad no fueron afectados ( $P \geq 0.40$ ) por los tratamientos. En conclusión, la RN alrededor del empadre alteró las concentraciones séricas de glucosa, colesterol y progesterona al inicio de la gestación, pero no la eficiencia reproductiva de ovejas de

pelo sincronizadas con progesterona y PMSG. Los resultados indican una alta habilidad de estas ovejas para priorizar su capacidad reproductiva bajo escenarios de malnutrición durante la estación de empadre.

**Palabras clave:** ovejas de pelo, malnutrición periconcepcional, conducta de estro, fertilidad.

## 4.2. Abstract

The aim of this study was to determine the effects of nutritional restriction pre- and post-mating on serum concentrations of some metabolites and progesterone after the conception, as well as on the reproductive performance of crossbred hair ewes subjected to an estrous synchronization protocol (progesterone plus 200 IU of PMSG) and natural mating. At d 30 before mating, 48 Katahdin x Pelibuey multiparous ewes (BW= 50.3±0.5 kg, BCS= 3.0±0.06 units) were assigned, under a randomized complete block design, to four nutritional restriction (NR) treatments (n=12): 1) no NR (control), 2) NR pre-mating (30 d, NRPRE), 3) NR post-mating (50 d, NRPOS) and 4) NR in both periods (80 d, TNR). All ewes were fed the same diet but NR ewes were fed only 60% of the nourishment offered to control (well-fed). Compared to the other treatments, BW and BCS at mating were higher ( $P < 0.01$ ) in control and NRPOS ewes, but at 50 d post-mating were higher ( $P < 0.01$ ) in control and NRPRE ewes. At lambing, TNR ewes had the lowest ( $P = 0.03$ ) BW and BCS, while serum concentrations of triglyceride, total protein and urea were unaffected ( $P \geq 0.13$ ) by the treatments. Also, lower glucose ( $P = 0.03$ ) and higher ( $P = 0.02$ ) cholesterol in serum were observed in NRPOS ewes than ewes of the other treatments. Progesterone concentrations were similar ( $P \geq 0.39$ ) among treatments until d 8 post-mating, and then (d 10-20) were higher ( $P \leq 0.05$ ) in NRPOS and TNR ewes than in NRPRE ewes. Estrus behavior, pregnancy, abortion rate, gestation length, fertility, fecundity and prolificacy were unaffected ( $P \geq 0.40$ ) by treatments. In conclusion, NR around mating alters serum concentrations of glucose, cholesterol and progesterone in the early gestation, but not the reproductive efficiency of crossbred hair ewes synchronized with progesterone and PMSG. Results point out the high ability of crossbred hair ewes to prioritize their reproductive capacity under malnutrition scenarios during the breeding season.

**Keywords:** hair sheep, periconceptional malnutrition, estrus behavior, fertility.

### 4.3. Introduction

The use of exogenous hormones to synchronize or induce estrous behavior is a reproductive strategy extensively applied in the sheep industry to improve the flock productivity [1]. The estrous synchronization protocol used traditionally in sheep involves inserting of an intravaginal sponge impregnated of synthetic progesterone during 10 or 12 d followed by an injection of PMSG 24 or 0 h before sponge removal. This protocol has showed to increase estrous response, ovulation, pregnancy rate, fertility, prolificacy and percentage of ewes with twin lambing in hair breeds [2-5]. Although, some studies has indicated that the reproductive response of synchronized hair ewes with this protocol can be influenced by several factors: genotype [4], application time and doses of PMSG [3], and type of service [6]. However, it has not been clarified the impact of undernutrition around the mating on the effectiveness of this hormonal treatment to improve the reproductive performance of hair-genotype ewes.

In sheep, undernutrition has been linked to a great number of reproductive failures during the periconceptual period, which are consequences of alterations in serum metabolite concentrations, as well as by the suppression of circulating metabolic hormones such as insulin, IGF-I and leptin [7]. Underfed ewes tend to have short-term estrous or total anestrus, as well as low ovulation rate or anovulation; this due to a low development and steroidogenic capacity in pre-ovulatory follicles [8], and to a decreased LH pulse frequency by inadequate hypothalamic GnRH secretion [9]. Additionally, it has been documented that undernutrition during the breeding season increases the concentration of peripheral progesterone and decreases the endometrial progesterone content [10], which promotes changes in the uterine environment and can be detrimental for the development, implantation and survival of the embryo [11]. Thus, underfed ewes before mating and during the first third of gestation have showed a reduction in fertility and reproductive efficiency [12].

In this sense, the hypothesis formulated is that nutritional restriction (NR) in the pre- and post-mating periods affects energy and fat metabolism, as well as progesterone synthesis, which in turn reduces the efficacy of estrous synchronization protocols to improve the reproductive performance of hair breed ewes. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effects of nutritional restriction before and/or after mating on serum concentrations of some metabolites and progesterone

after conception, and reproductive performance of crossbred hair ewes synchronized with progesterone plus PMSG.

#### **4.4. Materials and methods**

##### **4.4.1. Animals and management**

The experiment was conducted at the Sheep Experimental Unit of the Instituto de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma de Baja California, México (latitude 32° 24' north and longitude 115° 11' west); 48 Katahdin x Pelibuey non-pregnant adult ewes were used. Initially, ewes weighed  $50.3 \pm 0.6$  kg and had  $3.0 \pm 0.05$  units of BCS (1-5 scale [13]). In general, animals were managed under intensive production system before and during the experimental phase in which daily food and clean water were offered in the morning (0700 h) and afternoon (1700 h). Likewise, animals remained locked in corrals at all time. During the experiment, ewes were housed in four corrals, one per treatment ( $2.08 \text{ m}^2/\text{ewe}$ ), with enough feeder space ( $0.7 \text{ m}/\text{ewe}$ ) to eat all at once. Management applied to all ewes were according to techniques indicated in the following Mexican Official Norms: NOM-051-ZOO-1995 (Humanitarian care of animals during mobilization) and NOM-062-ZOO-1999 (Specific techniques for the production, care and use of laboratory animals).

##### **4.4.2. Treatments and mating**

Thirty days before mating, ewes were blocked by BW and within each block were randomly assigned to one of four NR treatments (n=12): 1) no NR (control), 2) NR during 30 d before mating (NRPRE), 3) NR during 50 d post-mating (NRPOS), and 4) NR in both periods (80 d, TNR). Control ewes were fed daily at 2.1 and 2.5% of their BW before and after mating, respectively, according to NRC recommendations [14]. Meanwhile, all NR ewes were fed daily at 1.26 (pre-mating) or 1.5% (post-mating) of their BW during restriction periods, and then returned to the same level of control feeding. Thus, the NR was based on the amount of dry matter (DM) offered according the weight of the animals, that is, 60% of DM from the recommended amount. In general, ewes were weighed individually each 10 d to adjust the supply of food. Table 6 shows the ingredients and chemical composition of the diets, which were formulated to meet daily nutritional requirements indicated [14] for ewes of 50 kg in maintenance stage (pre-mating) and the first third of pregnancy (post-mating). After finishing the application of treatments (d 50 post-mating),

pregnant ewes were fed the post-mating diet until d 100 of pregnancy. Then, a diet for late gestation formulated according to NRC nutritional requirements [14] for ewes carrying two fetuses (12% CP and 2.4 Mcal kg<sup>-1</sup> of DM) was offered.

Routinely, food samples (200 g) were collected in paper bags and dried in forced-air oven at 60° C during 48 h, and then were stored until chemical composition analysis [15,16]. Additionally, TDN [17], DE and ME [18] were calculated with formulas.

All ewes were subjected to an estrous synchronization protocol to ensure the mating 30 d after the initiation of the experiment, as well as the assignation of NR periods in line with treatments. Estrous was synchronized inserting vaginal sponges impregnated with 20 mg of fluorogestone acetate (Chronogest<sup>®</sup>, Intervet, D.F. Mexico) during 10 d and one intramuscular injection of 200 IU of PMSG (Folligon<sup>®</sup>, Intervet, D.F., México) 24 h prior to sponge removal. Between 12 and 48 h after sponge withdrawal, Dorper rams (n=6) were introduced in 3-h intervals for 30 min to experimental pens (one ram each time per pen) for estrus detection and natural mating. Each ewe received two mating, the first at the signs of estrus and the second 12 h later.

#### **4.4.3. Body weight and body condition score**

Both BW and BCS were recorded individually on days 30 pre-mating, mating and 50 post-mating, just before offering food in the morning. Also, BW and BCS at lambing after the expulsion of fetuses and fetal membranes were evaluated. The BCS was evaluated always by the same technical staff using the 5-points scale (1 =very thin to 5 = very fat [13]).

#### **4.4.4. Blood sampling**

Jugular blood samples were individually collected every two days between d 2 and 20 after mating. Samples were obtained before the morning meal and centrifuged at 3500 x g for 15 min at 10 °C after one hour from its collection. Serum was deposited in 2-mL vials and stored at -20 °C until assay for metabolites (glucose, cholesterol, triglycerides, total protein and urea) and progesterone. Serum metabolite concentrations were determined with a blood auto-analyzer of liquid-phase (EasyVet, KONTROLab, Mich., Mexico), and serum progesterone concentration was determined with the ELISA technique using a validated commercial kit (Monobind

Inc., Lake Forest, CA, USA), which had a sensitivity of 0.105 ng/mL and an average coefficient of variation between and within assays of 7.1%.

#### **4.4.5. Reproductive parameters**

Ewes detected in estrus as well as the hour of estrus detection were registered to calculate percentage of ewes in estrus and time to estrus (interval of time between sponge removal and onset of estrus). Additionally, a pregnancy diagnosis by real-time ultrasonography using a multifrequency transducer of 3.5/7.5 MHz (Draminski ultrasound, Animal profi model, Poland) was conducted at d 25 and then again at d 40 post-lambing to calculate percentage of pregnant ewes at d 25 from ewes mated, and also percentage of ewes with late embryonic losses at d 40 from ewes diagnosed pregnant. If an ewe showed a sudden expulsion of fetuses, it was recorded to calculate abortion rate as a percentage of ewes with abortion from diagnosed ewes pregnant at d 40 post-mating. At lambing, parturition date and number of newborn lambs were recorded from each ewe. Using this data, gestation length, lambing rate, fertility, fecundity, prolificacy, and percentages of single and multiple lambing were calculated. Gestation length was obtained by counting the number of days elapsed between mating and lambing. Lambing rate was the percentage of ewes lambbed from pregnant ewes previously diagnosed at d 25, while fertility was the percentage of ewes lambbed from ewes mated. Additionally, fecundity was calculated as the percentage of lambs born from ewes mated and prolificacy as the number of newborn per ewe lambbed. Finally, single or multiple lambing were calculated expressing the number of ewes lambbed with one lamb (single) and with two or more lambs (multiple) as a percentage of the total of ewes lambbed.

#### **4.4.6. Statistical analysis**

All data were analyzed using procedures of SAS program [19]. Body weight, BCS, time to estrus, gestation length and prolificacy was subjected to analysis of variance under a randomized complete block design using the GLM procedure. Same design but with repeated measures across time was used to analyze serum metabolite and progesterone concentrations through the MIXED procedure. Models included fixed effects of block (initial BW), treatment (feeding regimen), time (days post-mating) and the treatment x time interaction. Additionally, animal within treatment was used as the random effect. Means were separated with the

LSMEANS/PDIFF option, considering significant differences at  $P \leq 0.05$ . Variables expressed in percentages were analyzed with a chi-square test using the FREQ procedure at  $P \leq 0.05$ .

## 4.5. Results

### 4.5.1 Body weight and body condition score

Compared with Control and NRPOS ewes, lower BW ( $P < 0.01$ ) and BCS ( $P \leq 0.03$ ) were observed in NRPRE and TNR ewes at mating time (44.2 vs.  $47.7 \pm 0.7$  kg and 2.6 vs.  $2.9 \pm 0.1$  units in average), as well as in NRPOS and TNR ewes at d 50 post-mating (43 vs.  $48.5 \pm 1.3$  kg and 2.3 vs.  $3.0 \pm 0.1$  units in average; Table 7). At lambing, TNR ewes exhibited the lowest BW ( $P = 0.03$ ; 44.8 vs.  $48.2 \pm 0.8$  kg) and BCS ( $P = 0.05$ ; 2.6 vs.  $3.0 \pm 0.1$  units), while among NRPRE, NRPOS and control ewes no difference was observed ( $P \leq 0.58$ ).

### 4.5.2. Serum metabolites

The interaction treatment x time did not affect ( $P \geq 0.18$ ) serum metabolite concentrations. However, NR treatment altered ( $P \leq 0.05$ ) serum glucose and cholesterol concentrations, but not affected ( $P \geq 0.13$ ) serum concentrations of triglycerides, urea and total protein (Table 8). Meanwhile, NRPOS ewes showed the lowest ( $P = 0.05$ ) serum glucose levels (65.3 vs.  $60.2 \pm 2.1$  mg/dL) and the highest ( $P < 0.01$ ) serum cholesterol levels (75.7 vs.  $64.5 \pm 4.5$  mg/dL); control, NRPRE and TNR ewes had similar ( $P \geq 0.26$ ) serum concentrations of these metabolites.

In addition, day post-mating affected ( $P < 0.01$ ) serum concentrations of glucose (Fig. 3), urea and total protein (Fig. 5), without affecting ( $P \geq 0.42$ ) serum cholesterol and triglyceride concentrations (Fig. 4). Similar ( $P \leq 0.12$ ) glucose concentrations were observed at d 2, 4, 8, 10, 12 and 20 post-mating, although two falls (d 6 [ $50.5 \pm 1.3$  mg/dL] and 14 [ $55.4 \pm 1.3$  mg/dL]) were detected ( $P \leq 0.05$ ) in levels of this metabolite across the sampling days. On the other hand, glucose levels increased significantly ( $P \leq 0.05$ ) at d 16 ( $65.9 \pm 1.3$  mg/dL) and 18 ( $63.9 \pm 1.3$  mg/dL) compared with the other days. In the case of urea, the highest ( $P \leq 0.03$ ) mean values were observed at d 8 post-mating ( $27 \pm 1.4$  mg/dL). Also, compared with d 16 post-mating ( $19.1 \pm 1.4$  mg/dL), serum urea concentrations were higher ( $P \leq 0.02$ ;  $23.2 \pm 1.4$  mg/dL in average) at d 4, 6, 12 and 14, but similar ( $P \geq 0.28$ ;  $21.1 \pm 1.4$  mg/dL in average) relative to d 2, 10, 18 and 20. Moreover, serum protein

concentrations increased between d 2 and 16 post-mating, being lower ( $P < 0.01$ ) at d 2 and 4 ( $6.5 \pm 0.1$  mg/dL), intermediate ( $P < 0.01$ ) between d 6 and 14 ( $7.4 \pm 0.1$  mg/dL), and higher ( $P \leq 0.03$ ) at d 16 ( $7.9 \pm 0.1$  mg/dL). After d 16 post-mating, total protein levels began to drop for an intermediate level ( $P < 0.01$ ; d 20 =  $7.4 \pm 0.1$  mg/dL).

#### **4.5.3. Serum progesterone**

The feeding regimen x day post-mating interaction significantly affected ( $P = 0.03$ ) serum progesterone concentration (Fig. 6). Progesterone mean values were lower ( $P < 0.01$ ) at d 2 and 4 than d 8 and 20 post-mating for ewes of the four treatments. Before d 10 post-mating, progesterone concentrations were similar ( $P \geq 0.39$ ) among treatments, but then (d 10 to 20) in NRPRE ewes were lower ( $P \leq 0.05$ ) than in TNR and NRPOS ewes. Control ewes had similar ( $P \geq 0.32$ ) progesterone concentrations than ewes of any other treatment among d 10 and 18 after mating, and at d 20 post-mating their P4 concentrations were similar ( $P = 0.26$ ) to those of NRPRE ewes, but lower ( $P \leq 0.03$ ) relative to NRPOS and TNR ewes. Additionally, NRPOS and TNR ewes had similar ( $P \geq 0.23$ ) progesterone concentrations after d 8 post-mating.

#### **4.5.4. Reproductive parameters**

NR treatments did not affect ( $P \geq 0.48$ ) estrus behavior, pregnancy rate, early embryo loss, abortion rate, lambing rate and gestation length (Table 9). Also, similar ( $P \geq 0.40$ ) fertility, fecundity, prolificacy and percentages of single and multiple lambing were found by effect of NR treatments (Table 10).

### **4.6. Discussion**

#### **4.6.1. Body weight and body condition score**

The experimental model widely used to assess the effects of peri-conceptual undernutrition on reproductive performance in sheep is through exposing females to NR periods before and after mating [20, 21] to provoke losses of BW and BCS, and in consequence, metabolic and endocrine changes that may cause reproductive failures [22]. A similar model was applied with success in the current study promoting a reduction on BW and BCS before and/or after mating in crossbred hair ewes. The mobilization of body reserves to compensate the nutritional deficiency in

underfeeding experimental periods [23, 24] explains the results found at mating and 50 d after mating.

Interestingly, TNR ewes showed the lowest BW and BCS at lambing, which suggest that long-term undernutrition around mating does not allow hair ewes to return to its normal body state during mid and late gestation, despite that refeeding to 100% of nutritional requirements in the second and last third of gestation was offered after the NR period. Few studies have evaluated the long-term impact of a period of periconceptional undernourishment on BW and BCS of dams. However, in agreement with our findings, NR 15 d before mating to 30 d post-conception in Merino d'Arles ewes promoted lower BW at lambing in relation to a well-fed control group [24]. Similarly, another study reported 9.6% lower BW at d 110 of pregnancy in singleton bearing ewes by effect of the NR from 60 d before until 30 d after mating [25]. Overall, this long-lasting effect due to long-term periconceptional undernutrition on body status of dams may occur because the food consumed after d 50 of pregnancy was used directly for fetal nutrition and to meet nutritional needs for maintenance of mothers. Thus, restore body condition was not a priority in TNR ewes. There are evidences indicating that it is not possible for these animals to either mobilize body reserves to supply nutrients to fetuses and simultaneously recover their body condition [24]. Additionally, low glucose and insulin concentrations have been detected during the last third of gestation in ewes subjected to malnutrition before and after conception, which is indicative of fails in the energy metabolism [26].

#### **4.6.2. Serum metabolites**

In the literature has been widely documented that food deprivation in ewes promotes alterations in circulating levels of metabolites and metabolic hormones [9, 12]. However, there is high variation in results found, which has been linked to several factors: breed, undernutrition level, duration of treatments and physiological status [20]. In the present study, three NR treatments and a control group were tested on serum metabolite concentrations during the first 20 d post-conception, but only NR after mating showed to affect metabolite levels; specifically glucose and cholesterol. Decreased glucose and increased cholesterol were observed in NRPOS ewes compared with the other ewe groups. Therefore, an underfeeding post-mating in these ewes provokes short-term alterations on energy metabolism but not of protein. High adipose tissue mobilization as an immediate response to the nutritional

deficit could explain the opposite changes between serum glucose and cholesterol concentrations [25]. Gluconeogenesis decreases with the exposition of ewes to malnutrition periods due to a drop in the ruminal production of propionate, which is the main precursor for glucose [12,22]. This decrease is compensated by the glucose synthesis from glycerol provided by adipose tissue lipolysis [12].

The fact that NR before or both before and after mating did not affect blood metabolite concentrations associated with the energy and protein metabolism after mating, suggests a high adaptability of this sheep genotype to scenarios of low food availability. In the same way, a previous study reported no difference in blood concentrations of glucose and urea in the first 30 d post-conception among multiparous Romney ewes treated as control, NRPRE (60 d) and TNR (90 d) [26]. Additionally, these authors observed that metabolite concentration returned to normal levels in NRPRE ewes with the refeeding *ad libitum* after mating. This shows the metabolic plasticity of some sheep breeds to recover a normal metabolic functioning with an adequate level of feed intake after suffering malnutrition; this explains what happened in our NRPRE ewes. In the case of TNR ewes, perhaps undernutrition not altered serum metabolite concentrations in the post-mating period because they were able of achieving a metabolic stability under NR conditions during the 30 d prior to mating; this can be inferred, since those ewes lost 11.5% of BW in the pre-mating period (30 d) and only 5.4% in the post-mating period (50 d). The mobilization of body reserves in ruminants subjected to underfeeding during long time does not follow a linear pattern of decline, which is product of the activation of a glucose sparing mechanism [27], as well as by the increased use of NEFA and ketone bodies, instead of acetate and glucose, for energy metabolism [28].

On the other hand, serum concentrations of glucose, total protein and urea varied across 20 d after mating, independently of the NR treatments. There were two very notable decreases in glucose levels (d 6 and 14), which coincided with the periods of blastocyst formation and implantation [21], this given that 98% of ewes were pregnant in current study. Both periods of the early embryonic phase are characterized by an increase in the cellular metabolic activity [11], and the glucose-insulin system is responsible for providing sufficient energy to carry out these processes [22]. Insulin binding to its receptor results in a stimulation of glucose transports into the cells, being glucose a metabolic fuel for the reproductive processes in animals [7]. In this sense, perhaps, glucose falls at d 6 and 14 are

related with an increase in insulin levels, such as previously it were observed in Clun Forest ewes [29]. Also, earlier gestation is characterized by high protein syntheses used in the embryonic development, as well as in intra- and extracellular communication within the embryo or between embryo-mother [20]. A previous study indicated that slight increase in total protein concentrations can occur during the early gestation period due to the embryo-specific protein production during the implantation process, which can either be confined to the uterus or may appear in maternal blood [30]. This may explain the pattern of total protein concentration across the 20 d post-mating found in the study. In the case of serum cholesterol and triglyceride concentrations, no change into the first 20 d post-mating was observed, which suggest that the lipid metabolism is little involved in the establishment of early pregnancy, at least in hair crossbred ewes and under the methodological conditions of this study. Partially in line with these results, similar blood levels of cholesterol and triglycerides during follicular and luteal phase of the estrous cycle were detected in cyclic Barki ewes [31]. Worth noting that there is not information on the role of metabolites in the establishment of pregnancy in hair breed ewes, while using others breed is little the information. By consequence, more information is needed to understand the metabolite secretion patterns during the phase of early embryonic development.

#### **4.6.3. Serum progesterone**

Several studies have evaluated the effects of periconceptional undernutrition on blood progesterone concentrations in ewes; however, there are very few researches where malnutrition time (before, after or both) relative to conception was assessed for this hormone. Most studies reported greater progesterone levels in underfed ewes than in control ewes in some time of the luteal phase from estrous cycle [10, 32]; although, more recent publications suggest no effect of undernutrition on concentrations of this steroidal hormone across the estrous cycle [33] or early pregnancy [8, 23] in ewes. Overall, our results agree with the latter, and even more, this study demonstrated that NR before and/or after mating does not modify circulating levels of progesterone compared with well-fed ewes. We speculate that studies reporting high progesterone concentrations during the first 20 d post-conception by effect of periconceptional undernutrition is due to the manner in which control group was fed (> 100% nutritional requirements). In the current study and

those that indicate no effect of malnourished on progesterone, control ewes were fed at 100% of nutritional requirements [14]. A negative relationship between feed intake and blood progesterone concentrations has been demonstrated in mature ewes [9]. Moreover, there was higher serum progesterone concentration after d 8 post-mating for NRPOS and TNR ewes than for NRPRE ewes.

This suggests that NR around mating slightly affects progesterone production, but not so drastically as to be different compared to control group, at least in crossbred hair ewes. Thus, it is possible that progesterone levels in blood were somewhat increased with underfeeding after mating and also decreased lightly by underfeeding before mating followed by refeeding to a 100% of requirements. The combination of both responses to NR led to this result in studied ewes. In congruence with this hypothesis, there are studies indicating that an increase in blood progesterone of underfed ewes can be due to: 1) a decreased hepatic blood flow that induces low body clearance rate of steroid hormones [32], and 2) a high mobilization of fat tissue, which stores selectively steroid hormones [9]. Contrarily, low blood progesterone concentration in overfeeding ewes has been detected as consequence of an increase in the hepatic metabolism [9]. Notably, our results confirm that refeeding to 100% of nutritional needs after a 30-d undernutrition period produces similar effects on blood progesterone concentrations in hair breed ewes than in overfeeding ewes.

#### **4.6.4. Reproductive parameters**

The reproductive efficiency achieved in crossbred hair ewes after the application of the synchronization protocol was not modified by the induced undernutrition around mating, despite changes found in serum levels of glucose, cholesterol and progesterone during early gestation as a consequence of NR treatments. Therefore, these findings do not agree with those reported in previous studies, which have suggested that periconceptual undernutrition can promote a low reproductive performance in ewes due to the activation of metabolic, endocrine and molecular mechanisms in order to compensate nutritional deficiencies [22, 24, 25, 33]. So the reproductive processes take second place, and the presence of reproductive failures is common in underfed ewes before and after mating [20, 22, 33].

There are two hypotheses that could explain the lack of negative effects of NR on reproductive performance of our crossbred hair ewes. First, the stimulatory effect of the hormone PMSG on the follicular development was above possible deleterious effects that can produce the underfeeding treatments on the development and functionality of pre-ovulatory follicles [8]. The second hypothesis revolves around that the loss of body condition provoked by NR treatments was not sufficient to endanger the proper function of the reproductive processes to ovarian and uterine level at mating time ( $2.65 \pm 0.1$  units in average for NRPRE and TNR) and through the early gestation ( $2.35 \pm 0.1$  units in average for NRPOS and TNR). Thereon, it has been documented that ewes with a BCS between 2.5 and 3.0 units from a 5-point scale have appropriate metabolic welfare, although a  $BCS \leq 2.0$  or  $\geq 3.5$  units must be avoided to prevent metabolic disturbances [34, 35]. In fact, Pelibuey breed ewes have exhibited adequate estrous behavior, ovulation rate and follicular development having BCS of 2.5 units [36]; in the same study indicated that an optimal BCS at mating time for this sheep breed is 2.4 units. Finally, a third hypothesis is related to the low number of replicates used per treatment ( $n=12$ ), which perhaps did not allow the detection of significant effects of NR around mating on reproductive parameters. Therefore, results on reproductive efficiency demonstrate the need to develop more research on this topic, but using more animals.

#### **4.7. Conclusions**

It is concluded that nutritional restriction before or after mating in crossbred hair ewes have only detrimental effects during the restriction, but has no long-term effect on BW and BCS. However, long-term NR in the perioconceptional period has a negative impact on their body status, which extends until lambing. Additionally, the NR to 60% of the feed intake required around the mating is not a factor limiting the reproductive efficiency of ewes subjected to a synchronization protocol with synthetic progestogens and 200 IU of PMSG; this despite the observed changes in energy metabolism (glucose and cholesterol) and circulating blood levels of progesterone after mating as a result of undernutrition treatments. Finally, this study demonstrates that both glucose and protein metabolism could play a key role in the early embryonic development and implantation of pregnant ewes, at least in crosses of Pelibuey breed.

#### 4.8. Literature cited

1. Abecia JA, Forcada F, Gonzalez-Bulnes A. Pharmaceutical control of reproduction in sheep and goats. *Vet Clin N Am Food Anim Pract.* 2011;27:67-79.
2. Santos GMG, Silva-Santos KC, Melo-Sterza FA, Mizubuti IY, Moreira FB, Seneda MM. Reproductive performance of ewes treated with an anestrus induction/synchronization protocol during the spring season. *Anim Reprod.* 2011;8:3-8.
3. Quintero-Elisea JA, Macías-Cruz U, Álvarez-Valenzuela FD, Correa-Calderón A, González-Reyna A, Lucero-Magaña FA, Soto-Navarro SA, Avendaño-Reyes L. The effects of time and dose of pregnant mare serum gonadotropin (PMSG) on reproductive efficiency in hair sheep ewes. *Trop Anim Health Prod.* 2011;43:1567-1573.
4. Macías-Cruz U, Ponce-Covarrubias JL, Álvarez-Valenzuela FD, Correa-Calderón A, Meza-Herrera CA, Avendaño-Reyes L. Reproductive efficiency of Pelibuey and Romanov x Pelibuey ewes synchronized with synthetic progesterone and low doses of PMSG under a hot environment. *Czech J Anim Sci.* 2013;58:546-553.
5. Aké-López JR, Centurión-Castro FG, Magaña-Monforte JG, Aké-Villanueva JR. Effect of progestagen and dose of equine gonadotropin corionic on estrus synchronization and pregnancy rate in Pelibuey ewes following laparoscopic insemination. *Ecosist Rec Agropecu.* 2014;1:261-268.
6. Quintero-Elisea JA, Vázquez-Armijo JF, Cienfuegos-Rivas EG, Correa-Calderón A, Avendaño-Reyes L, Macías-Cruz U, Lucero-Magaña FA, González-Reyna A. Reproductive behavior and efficiency in Pelibuey ewes treated with FGA-PMSG and bred by mounting or laparoscopic intrauterine insemination. *J Appl Anim Res.* 2010;38:13-16.
7. Scaramuzzi R, Campbell B, Downing J, Kendall N, Khalid M, Muñoz-Gutiérrez M, Somchit A. A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. *Reprod Nutr Dev.* 2006;46:339-354.

8. Sosa C, Gonzalez-Bulnes A, Abecia JA, Forcada F, Meikle A. Short-term undernutrition affects final development of ovulatory follicles in sheep synchronized for ovulation. *Reprod Dom Anim.* 2010;45:1033-1038.
9. Boland MP, Lonergan P, O'Callaghan D. Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, and oocyte and embryo development. *Theriogenology.* 2001; 55:1323-1340.
10. Lozano JM, Abecia JA, Forcada F, Zarazaga L, Alfaro B. Effect of undernutrition on the distribution of progesterone in the uterus of ewes during the luteal phase of the estrus cycle. *Theriogenology.* 1998;49:539-546.
11. Spencer TE, Greg AJ, Bazer FW, Burghardt RC. Implantation mechanisms: insights from the sheep. *Reproduction.* 2004;128:657-668.
12. Chillard Y, Bocquier F, Doreau M. Digestive and metabolic adaptations on ruminants to undernutrition, and consequences on reproduction. *Reprod Nutr Dev.* 1998;38:131-152.
13. Russel AJF, Doney JM, Gunn RJ. Subjective assessment of body fat in live sheep. *J Agric Sci.* 1969;72:451-454.
14. NRC. *Nutrient Requirements of Small Ruminants: sheep, goats, cervids, and new world camelids.* Natl. Acad. Press, Washington, DC; 2007.
15. AOAC. *Official Methods of Analysis, 15th ed.* Assoc. Anal Chem, Arlington, VA; 1990.
16. Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci.* 1991;74:3583-3597.
17. Cappelle ER, Valadares FSC, Silva JFC, Cecon PC. Estimativas do valor energético a partir de características químicas e bromatológicas dos alimentos. *R Bras Zootec.* 2001;30:1837-1856.
18. NRC. *Nutrient Requirements of Sheep. 6<sup>th</sup> Ed.* Washington, D.C., USA. National Academy Press; 1985.
19. SAS INSTITUTE, SAS/STAT. *User's guide statistics released 9.1, 2nd Ed.* SAS Institute, Inc. Cary, NC, USA; 2004.
20. Ashworth CJ, Toma LM, Hunter MG. Nutritional effects on oocyte and embryo development in mammals: implications for reproductive efficiency and environmental sustainability. *Phil Trans R Soc B.* 2009;364:3351-3361.

21. Fleming TP, Velazquez MA, Eckert JJ, Lucas ES, Watkins AJ. Nutrition of females during the peri-conceptual period and effects on foetal programming and health of offspring. *Anim Reprod Sci.* 2012;130:193-197.
22. Dupont J, Scaramuzzi RJ, Reverchon M. The effect of nutrition and metabolic status on the development of follicles, oocytes and embryos in ruminants. *Animal.* 2014;8:1031-1044.
23. Muñoz C, Carson AF, McCoy MA, Dawson LER, O'Connell NE, Gordon AW. Nutritional status of adult ewes during early and mid-pregnancy. 1. Effects of plane of nutrition on ewe reproduction and offspring performance to weaning. *Animal.* 2008;2:52-63.
24. Debus N, Chavatte-Palmer P, Viudes G, Camous S, Roséfort A, Hassoun P. Maternal periconceptual undernutrition in Merinos d Arles sheep: 1. Effects on pregnancy and reproduction results of dams and offspring growth performance. *Theriogenology.* 2012;77:1453-1465.
25. Rumball CWH, Harding JE, Oliver MH, Bloomfield FH. Effects of twin pregnancy and periconceptual undernutrition on maternal metabolism, fetal growth and glucose-insulin axis function in ovine pregnancy. *J Physiol.* 2008;586:1399-1411.
26. Rumball CWH, Bloomfield FH, Oliver MH, Harding JE. Different periods of periconceptual undernutrition have different effects on growth, metabolic and endocrine status in fetal sheep. *Pediatr Res.* 2009;66:605-613.
27. Langley-Evans SC. Fetal nutrition and adult disease: Programming of chronic disease through fetal exposure to undernutrition. CABI Publishing in association with The Nutrition Society. London, UK; 2004.
28. De Brun V, Meikle A, Casal A, Sequeira M, Contreras-Solís I, Carriquiry M, Forcada F, Sosa C, Abecia JA. Periconceptual undernutrition modifies endocrine profiles and hepatic gene expression in sheep. *Anim Physiol Anim Nutr.* 2015;99:710-718.
29. Davies-Morel MCG, Beck NFG. A comparison of plasma growth hormone, insulin, free fatty acid and glucose concentrations during oestrus and early pregnancy in Clun Forest ewe lambs and ewes. *Small Ruminant Res.* 2003;48:127-134.
30. Batavani RA, Ansari MH, Asri S. Concentrations of serum total protein and protein fractions during diestrus and pregnancy in Makuui ewes. *Comp Clin Pathol.* 2006;15:227-230.

31. Kandiel MMM, El-Khaiat HM, Mahmoud KGhM. Changes in some hematobiochemical and hormonal profile in Barki sheep with various reproductive statuses. *Small Ruminant Res.* 2016;136:87-95.
32. Sosa C, Abecia JA, Forcada F, Viñoles C, Tasende C, Valares JA, Palacín I, Martin GB, Meikle A. Effect of undernutrition on uterine progesterone and oestrogen receptors and on endocrine profiles during the ovine oestrous cycle. *Reprod Nutr Dev.* 2006;18:447-458.
33. Sosa C, Abecia JA, Carriquiry M, Forcada F, Martin GB, Palacín I, Meikle A. Early pregnancy alters the metabolic responses to restricted nutrition in sheep. *Domest Anim Endocrin.* 2009;36:13-26.
34. Caldeira RM, Belo AT, Santos CC, Vazques MI, Portugal AV. The effect of body score on blood metabolites and hormonal profiles in ewes. *Small Ruminant Res.* 2007;68:233-234.
35. Sejian V, Maurya VP, Naqvi SMK, Kumar D, Joshi A. Effect of induced body condition score differences on physiological response, productive and reproductive performance of Malpura ewes kept in a hot, semi-arid environment. *J Anim Physiol Anim Nutr* 2010;94:154-61.
36. De la Isla HG, Ayala-Burgos A, Aké-López R, Gonzalez-Bulnes A. Effects of body condition change over oestrus, follicular development and ovulation rate in Pelibuey ewes under tropical condition. *Trop Subtrop Agroecosyst.* 2011;14:337-347.

#### 4.9. Tables and figures

Table 6. Ingredients and chemical composition of diets used in pre- and post-conception.

Item	Pre-mating <sup>a</sup>	Post-mating <sup>b</sup>
Ingredients (%) <sup>c</sup>		
Sudan hay	85.0	80.0
Alfalfa hay	15.0	20.0
Chemical composition		
Dry matter (%)	92.2	92.3
CP (%) <sup>d</sup>	8.5	9.0
Ash (%) <sup>d</sup>	13.5	13.8
Ether extract (%) <sup>d</sup>	1.21	1.16
NDF (%) <sup>d</sup>	61.31	64.21
TND <sup>1</sup> (%) <sup>d,e</sup>	55.98	54.32
DE (Mcal/ Kg) <sup>d,f</sup>	2.46	2.39
ME (Mcal/Kg) <sup>b,g</sup>	2.02	1.96

<sup>a</sup> Diet offered during 30 days before mating.

<sup>a</sup> Diet offered during 50 days after mating (first third of pregnancy).

<sup>c</sup> Amounts of each ingredient as fed basis.

<sup>d</sup> Dry matter basis.

<sup>e</sup> TND=  $91.0246 - (0.571588 \times \text{NDF})$  [17].

<sup>f</sup> DE=  $\text{TND} \times 0.044$  [18].

<sup>g</sup> ME=  $\text{DE} \times 0.82$  [18].

Table 7. Live weight and body condition score of crossbred hair ewes subjected to nutritional restriction around the conception.

Items	Treatments <sup>a</sup>				SEM	P-Value
	Control	NRPRE	NRPOS	TNR		
<b>BW (kg)</b>						
d 30 pre-mating	50.2	50.3	50.3	50.2	0.5	0.96
Mating	47.7a	44.0b	47.7a	44.4b	0.7	<0.01
d 50 post-mating	49.0a	48.0a	44.0b	42.0b	1.3	<0.01
Lambing	49.1a	47.7a	47.8a	44.8b	0.8	0.03
<b>BCS (units)</b>						
d 30 pre-mating	2.9	3.0	3.0	2.9	0.06	0.31
Mating	2.9a	2.7b	2.9a	2.6b	0.1	0.03
d 50 post-mating	3.0a	3.0a	2.4b	2.3b	0.1	<0.01
Lambing	3.0a	3.0a	2.9a	2.6b	0.1	0.05

<sup>a</sup> Ewes fed 100% of nutritional requirements (control) or with 40% of nutritional restriction before (30 d, NRPRE), after (50 d, NRPOS) or in both periods (80 d, TNR) from mating.

Different letters in a row indicate differences among treatments.

Table 8. Serum metabolite concentrations in the first 20 days post-conception of crossbred hair ewes subjected to nutritional restriction around the conception.

Metabolites (mg/dL)	Treatments <sup>a</sup>				SEM	P-Value <sup>b</sup>		
	Control	NRPRE	NRPOS	TNR		T	D	TxD
Glucose	59.7a	59.6a	55.3b	61.2a	2.1	0.05	<0.01	0.30
Cholesterol	63.0a	65.8a	75.7b	64.8a	4.5	<0.01	0.92	0.21
Triglycerides	40.1	42.8	41.9	39.3	2.6	0.49	0.42	0.88
Total protein	7.4	7.3	7.4	7.1	0.16	0.67	<0.01	0.18
Urea	23.9	21.8	22.6	22.0	1.9	0.13	<0.01	0.37

<sup>a</sup> Ewes fed 100% of nutritional requirements (control) or with 40% of nutritional restriction before (30 d, NRPRE), after (50 d, NRPOS) or in both periods (80 d, TNR) from mating.

<sup>b</sup> Probability values for effects of treatments (T), days post-mating (D) and its interaction (TxD).

Different letters in a row indicate differences among treatments.

Table 9. Effects of nutritional restriction around the mating on estrus behavior, pregnancy preservation and gestation length in crossbred hair ewes treated with progesterone and PMSG for estrous synchronization.

Items	Treatments <sup>a</sup>				P- Value
	Control	NRPRE	NRPOS	TNR	
Estrus responses (%)	11/12 (91.7)	12/12 (100.0)	11/12 (91.7)	12/12 (100.0)	0.55
Time to estrus (h)	28.2±2.0	29.7±1.9	32.0±2.0	29.9±1.9	0.57
Pregnancy at d 25 (%)	11/11 (100)	12/12 (K100.0)	11/11 (100)	12/12 (100.0)	0.99
Early embryo loss (%)	2/11 (18.2)	4/12 (33.3)	4/11 (36.4)	2/12 (16.7)	0.61
Abortion rate (%)	0/9 (0.0)	0/8 (0.0)	0/7 (0.0)	1/10 (10.0)	0.48
Lambing rate (%)	9/11 (81.8)	8/12 (66.7)	7/11 (63.6)	9/12 (75.0)	0.77
Gestation length (d)	150.3±0.56	150.6±0.61	149.1±0.71	149.9±0.60	0.55

<sup>a</sup> Ewes fed 100% of nutritional requirements (control) or with 40% of nutritional restriction before (30 d, NRPRE), after (50 d, NRPOS) or in both periods (80 d, TNR) from mating.

Table 10. Effects of nutritional restriction around the conception on fertility and lamb births in crossbred hair ewes treated with progesterone and PMSG for estrous synchronization.

Items	Treatments <sup>a</sup>				<i>P</i> -Value
	Control	NRPRE	NRPOS	TNR	
Fertility (%)	9/12 (75.0)	8/12 (66.7)	7/12 (58.3)	9/12 (75.0)	0.78
Fecundity (%)	20/12 (166.7)	15/12(125.0)	11/12 (91.7)	17/12 (141.7)	0.40
Prolificacy	2.1±0.3	1.9±0.3	1.6±0.3	1.9±0.3	0.78
Single lambing (%)	2/9 (22.2)	2/8 (25.0)	3/7 (42.9)	2/9 (22.2)	0.77
Multiple lambing (%)	7/9 (77.8)	6/8 (75.0)	4/7 (57.14)	7/9 (77.8)	0.77

<sup>a</sup> Ewes fed 100% of nutritional requirements (control) or with 40% of nutritional restriction before (30 d, NRPRE), after (50 d, NRPOS) or in both period (80 d, TNR) from mating.

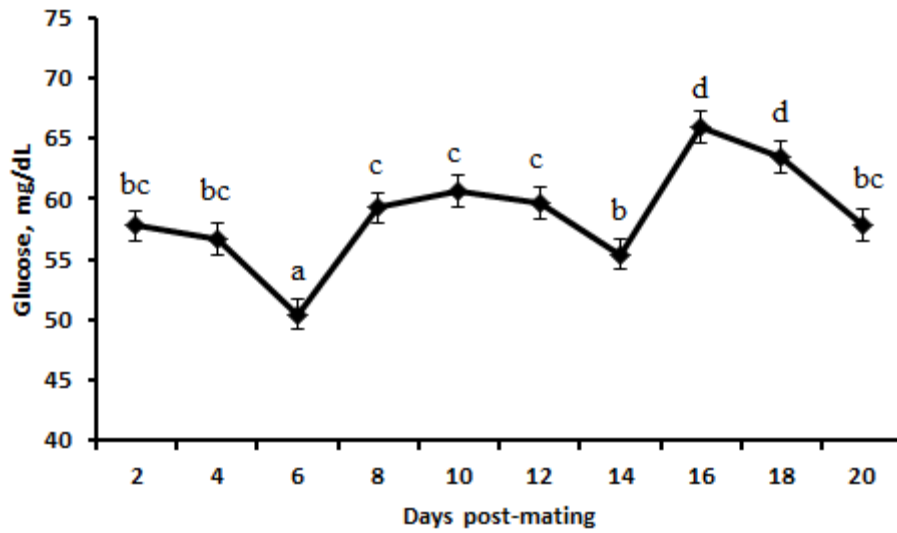


Fig. 3. Effect of day post-mating on serum glucose concentrations across the first 20 days post-mating in crossbred hair ewes subjected to nutritional restriction around the conception (abc, different letters indicate difference among days at  $P < 0.05$  ).

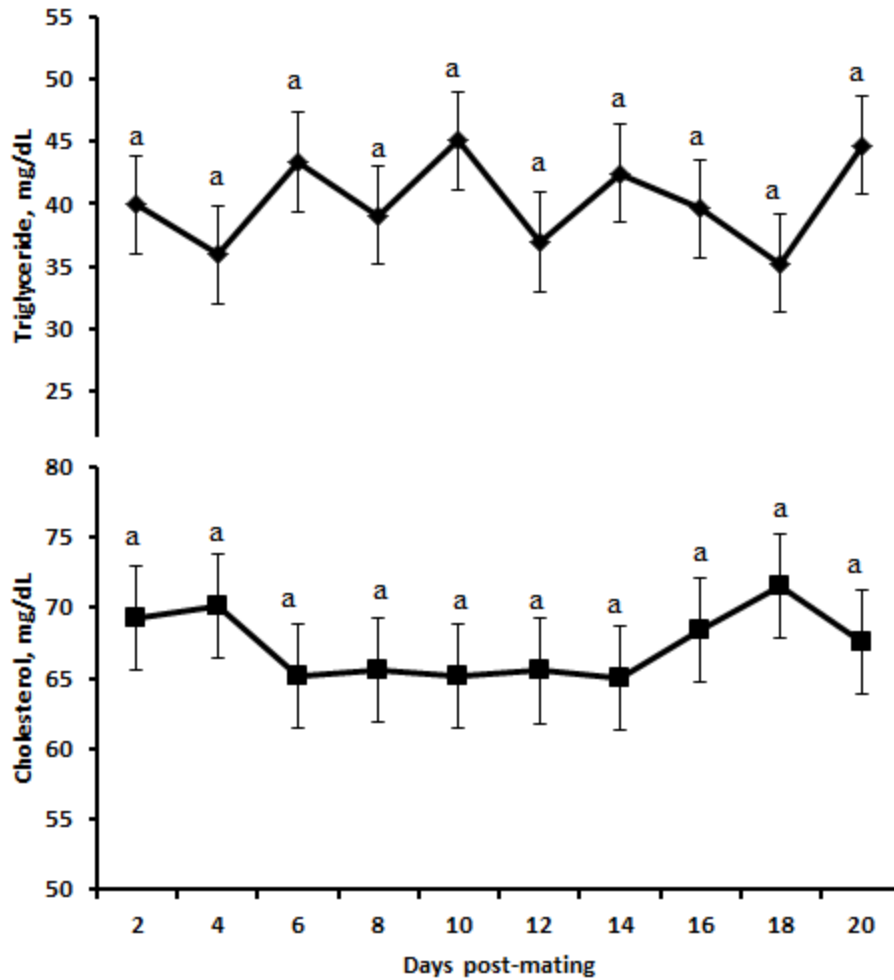


Fig. 4. Effect of day post-mating on serum cholesterol and triglyceride concentrations across the first 20 days post-mating in crossbred hair ewes subjected to nutritional restriction around the conception (abc, different letters indicate difference between days at  $P < 0.05$ ).

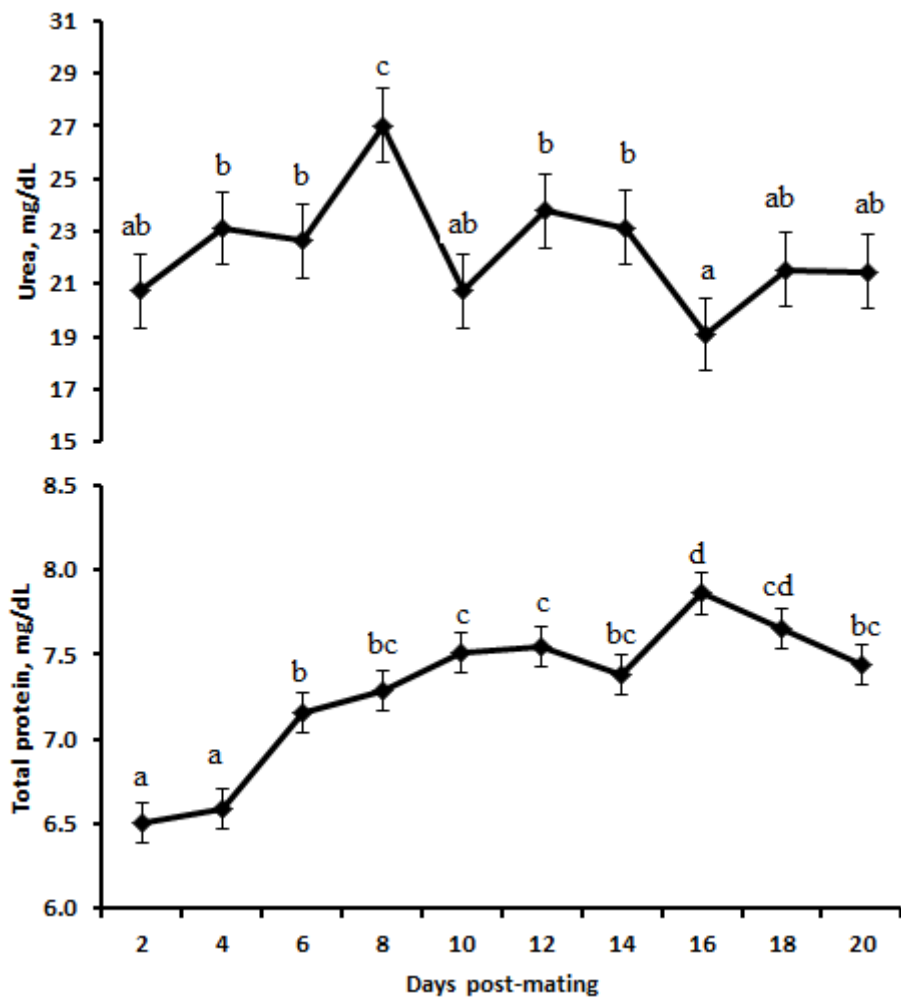


Fig. 5. Effect of day post-mating on serum total protein and urea concentrations across the first 20 days post-mating in crossbred hair ewes subjected to nutritional restriction around the conception (abc, different letters indicate difference between days at  $P < 0.05$ ).

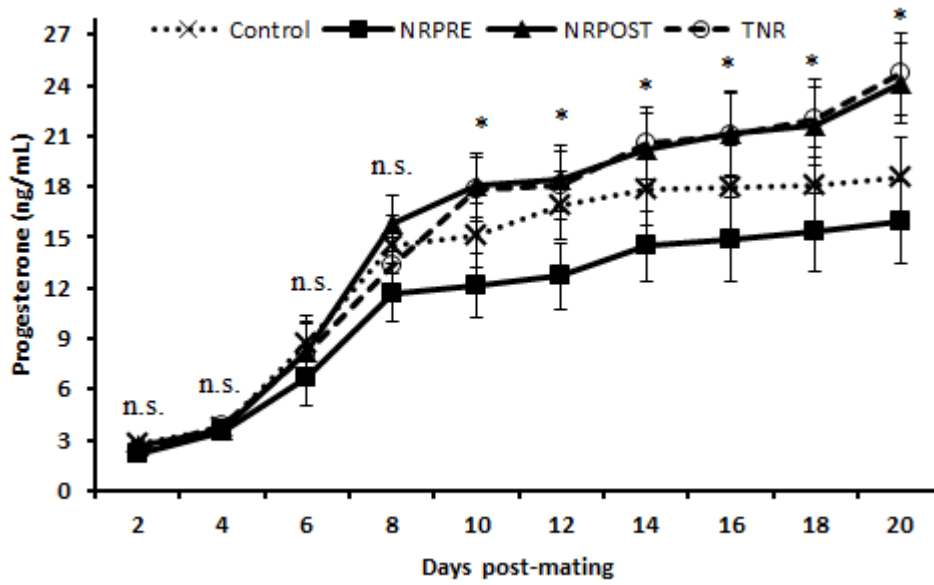


Fig. 6. Effect of the interaction nutritional restriction treatments and days post-mating on serum progesterone concentrations in crossbred hair ewes subjected to nutritional restriction around mating (Not significant at  $P \geq 0.05$  [n.s.] and differences significant at  $P \leq 0.05$  [\*] among treatment within each day post-mating).

## 5. CONCLUSIONES GENERALES

La restricción nutricional pre-empadre y primer tercio de gestación provocó pérdidas de peso vivo y condición corporal en las ovejas. Sin embargo, conforme la alimentación fue restablecida, las ovejas recuperaron su estado corporal a través de la gestación, excepto el grupo que se restringió por ambos periodos (80 d), las cuales mantuvieron menor peso y condición corporal al parto.

El número de ovejas que manifestaron signos de estro y las horas al estro después del retiro del progestágeno no fue afectada por la restricción nutricional pre-empadre, lo que sugiere que este evento no produce suficiente caída del estado corporal para afectar el conducta estral, o bien el tratamiento hormonal anuló los posibles efectos negativos de la baja condición corporal y la restricción nutricional sobre eje reproductivo en ovejas de pelo.

Las concentraciones de metabolitos sanguíneos no fueron afectados durante los primeros 20 d de gestación por efecto del régimen de alimentación, excepto glucosa. El grupo restricción post-empadre mantuvo la concentración más baja de glucosa del empadre al d 20 de gestación.

El perfil de progesterona fue modificado por la restricción nutricional, siendo el grupo restricción en ambos periodos el que presento los valores más bajos durante los primeros 20 d de gestación.

La exposición de las ovejas a un periodo de restricción nutricional pre-empadre favorece el desarrollo de fetos de mayor talla y con abdómenes más grandes, situación que podría tener un impacto negativo sobre el desarrollo y crecimiento post-natal de las crías por alterar la trayectoria de crecimiento fetal.

Sin embargo, los regímenes de alimentación no afectaron la prolificidad, fecundidad, fertilidad, porcentajes de partos (simples y múltiples), absorciones embrionarias y abortos. En general, la eficiencia reproductiva no fue afectada por la restricción nutricional pre-empadre y primer tercio de gestación en ovejas de pelo. No obstante, para futuros estudios sobre la eficiencia reproductiva en este tópico se recomienda incrementar el número de unidades experimentales por tratamiento para disminuir la variación.