

UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA  
FACULTAD DE AGRONOMIA

EFFECTO DEL PASTOREO DE *LOTUS ULIGINOSUS* (CV. MAKU) PREVIO AL  
SERVICIO SOBRE LA FECUNDIDAD OVINA

por

Exequiel LAFOURCADE FREDES  
Pedro RODRIGUEZ MONZA

Tesis presentada como uno de  
los requisitos para obtener el  
título de Ingeniero Agrónomo

MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2004

Tesis aprobada por:

Director:

\_\_\_\_\_  
Nombre completo y firma

\_\_\_\_\_  
Nombre completo y firma

\_\_\_\_\_  
Nombre completo y firma

Fecha:

\_\_\_\_\_

Autor:

\_\_\_\_\_  
Nombre completo y firma

\_\_\_\_\_  
Nombre completo y firma

\_\_\_\_\_  
Nombre completo y firma

## AGRADECIMIENTOS

En especial al Ing. Agr. Jorge Telechea quién nos recibió en su establecimiento permitiéndonos realizar este trabajo, así como a su personal que colaboro en todo momento con nosotros.

Al Ing. Agr. Daniel Formoso e Ing. Agr. Daniel Fernández Abella, Prof. Pedro Díaz, nuestras respectivas familias y amigos, quienes nos apoyaron en todo momento y sin quienes no hubiéramos podido llevar a cabo este trabajo.

## TABLA DE CONTENIDOS

	Página
PAGINA DE APROBACION.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.....	VI
<u>1. INTRODUCCION.....</u>	<u>1</u>
<u>2. REVISION BIBLIOGRAFICA.....</u>	<u>3</u>
2.1 ASPECTOS BASICOS DE LA FISIOLOGIA DE LA REPRODUCCION...3	3
2.1.1 <u>Ciclo estral.....</u>	<u>4</u>
2.1.2 <u>Foliculogénesis.....</u>	<u>5</u>
2.1.3 <u>Tasa ovulatoria.....</u>	<u>8</u>
2.1.4 <u>Perfiles hormonales.....</u>	<u>9</u>
2.1.5 <u>Influencia de la alimentación sobre los niveles hormonales.....</u>	<u>11</u>
2.2 NUTRICION Y TASA OVULATORIA.....	12
2.2.1 <u>Nutrición energética.....</u>	<u>15</u>
2.2.2 <u>Nutrición proteica.....</u>	<u>19</u>
2.3 LOTUS MAKU: CARACTERISTICAS GENERALES.....	28
2.3.1 <u>La planta.....</u>	<u>28</u>
2.3.2 <u>Adaptación e implantación.....</u>	<u>29</u>
2.3.3 <u>Fijación de nitrógeno.....</u>	<u>30</u>
2.3.4 <u>Producción de forraje.....</u>	<u>31</u>
2.3.5 <u>Valor forrajero.....</u>	<u>32</u>
2.3.6 <u>Producción de semilla.....</u>	<u>35</u>
<u>3. MATERIALES Y METODOS.....</u>	<u>36</u>
3.1 LOCALIZACION Y PERIODO EXPERIMENTAL.....	36
3.2 SUELOS Y PASTURAS.....	36
3.3 ANIMALES EXPERIMENTALES.....	36
3.3.1 <u>Tratamiento.....</u>	<u>37</u>
3.4 MEDICIONES EN LA PASTURA.....	38
3.5 ANALISIS DE LABORATORIO.....	39
3.5.1 <u>Análisis de valor nutritivo.....</u>	<u>39</u>
3.5.2 <u>Extracción de aminoácidos libres.....</u>	<u>40</u>
3.5.2.1 <u>Identificación y cuantificación de aminoácidos por HPLC.....</u>	<u>40</u>
3.6 ANALISIS ESTADISTICO.....	41
<u>4. RESULTADOS Y DISCUSION.....</u>	<u>43</u>

4.1 CARACTERIZACION DE LA OFERTA FORRAJERA DURANTE EL PERIODO DE SOBREALIMENTACION PREVIO A LA ENCARNERADA.....	43
4.2 EFECTO DEL PASTOREO PREVIO A LA ENCARNERADA SOBRE EL ESTADO NUTRICIONAL DE LAS OVEJAS.....	46
4.3 EFECTO DEL PASTOREO PREVIO A LA ENCARNERADA SOBRE EL DESEMPEÑO REPRODUCTIVO DE LAS OVEJAS.....	47
5. <u>CONCLUSIONES</u> .....	55
6. <u>RESUMEN</u> .....	56
7. <u>SUMMARY</u> .....	57
8. <u>BIBLIOGRAFIA</u> .....	58

## LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Cuadro N°	Página
1. Principales hormonas vinculadas a la reproducción.....	3
2. Efecto de la condición corporal sobre la tasa ovulatoria.....	17
3. Efecto de la suplementación energética y proteica de ovejas Ideal sobre campo natural entorno a la encarnerada sobre la tasa ovulatoria, que se expresa como el número total de cuerpos lúteos/ovejas que ovularon.....	25
4. Aporte relativo en porcentaje de diferentes leguminosas en mejoramientos de campo sobre dos suelos contrastantes de la Región Este (total acumulado 1992-1994).....	31
5. Digestibilidad de la materia orgánica (DMO), proteína cruda (PC) y fibra detergente ácido (FDA) de mejoramientos de campo con diferente proporción leguminosas en la muestra.....	33
6. Valores en la concentración de taninos condensados ( $\text{g kg}^{-1}$ de MS) de especies del género <i>Lotus</i> en estado vegetativo según el nivel de fertilidad del suelo.....	34
7. Area de los potreros y dotación según asignación de forraje.....	37
8. Registros pluviométricos del período 6/IV/04 - 6/VI/04 expresados en mm.....	39
9. Condiciones de elusión de las muestras OPA-aminoácidos.....	40
10. Curva de calibración, tiempo de retención y relación de flujo (Rf) para cada aminoácido y compuestos nitrogenados glutation (gsh) y $\gamma$ -amino butirato (gaba) .....	41
11. Cantidad de forraje disponible expresado en $\text{kg MS y MV ha}^{-1}$ y relación MS/MV durante el flushing.....	43
12. Evolución de la asignación de forraje durante el flushing.....	43
13. Calidad de forraje disponible durante el flushing.....	44

14. Efecto del pastoreo previo a la encarnerada sobre la condición corporal de las ovejas.....	46
15. Requerimientos de materia seca, proteína cruda y energía metabolizable (NRC, 1985), y oferta según asignación de forraje.....	47
16. Efecto de la asignación de forraje sobre nivel ovulatorio, grado de estimulación folicular y eficiencia ovulatoria.....	50
17. Efecto de la asignación de forraje (2 % vs. >2 %) sobre el porcentaje de preñez, mellizas y fecundidad.....	51

Figura N°	Página
1. Estructura básica de un folículo en las últimas etapas de desarrollo (Adaptado de Viñoles, 2003).....	6
2. Diámetro de los folículos en función de la etapa de crecimiento y los días previos a la ovulación (Adaptado de Viñoles, 2003).....	6
3. Perfil de los niveles de las principales hormonas gonadales e hiofisiarias durante el ciclo estral (Adaptado de Scaramuzzi et al., 1993).....	10
4. Concentración de aminoácidos por fecha de muestreo según asignación de forraje.....	45
5. Tasa ovulatoria y porcentaje de ovejas con ovulaciones múltiples según asignación de forraje.....	48
6. Representación de la frecuencia del grado de estimulación folicular según asignación de forraje.....	50
7. Frecuencia de tamaño fetal chico según asignación de forraje.....	53

## 1.INTRODUCCION

La situación nacional del sector ovino determina la necesidad de incrementar su stock luego de la caída de los últimos años. El bajo porcentaje de procreo obtenido históricamente, que actualmente no se ha mejorado, parece ser una de las principales limitantes.

La investigación nacional ha desarrollado distintas alternativas que buscan incrementar el porcentaje de procreo. Entre ellas el uso estratégico de mejoramientos forrajeros y/o suplementación entorno a la encarnerada, conocido como efecto flushing (Coop, 1966; Rattray et al., 1980; Pearse et al., 1994; Godfrey et al., 2003), permite obtener una mayor eficiencia reproductiva al aumentar la tasa ovulatoria (Banchero et al., 2002).

Scaramuzzi, (1988), señala que la eficiencia reproductiva en las ovejas es producto de tres factores: fertilidad, prolificidad y supervivencia de los corderos. Además destaca que la prolificidad es determinada por la tasa ovulatoria que puede ser influenciado por la nutrición.

La investigación de los efectos de la nutrición sobre la reproducción se ha centrado en suplementos proteicos y/o energéticos. Luque et al., (2000), encontraron que al suplementar con proteína entorno al período de encarnerada se incrementa la tasa ovulatoria. Jauhiainen y Sormunen-Cristian, (2002), señalan que la práctica de suplementar con energía durante dos a tres semanas previas a la encarnerada determina un aumento en el número de corderos producidos.

La respuesta animal a la práctica de sobrealimentar ovejas en torno a la encarnerada depende de varios factores. La edad del animal, la raza, el estado nutricional previo, el tipo de alimento suministrado y la época del año son los más importantes, y en general hay acuerdo que los mejores resultados se obtienen en ovejas de dos o más años de edad, en razas poco prolíficas, con estado corporal intermedio y que reciben alimento con un balance óptimo de energía y proteína durante el otoño (Bianchi, 1995).

En relación a la duración del flushing, en general períodos cortos de tiempo al inicio de la encarnerada han permitido obtener resultados positivos (Lindsay, 1976; Smith et al., 1983; Stewart y Oldham, 1986, Molle et al., 1995).

A nivel nacional Azzarini, (1990), obtuvo incrementos en la tasa ovulatoria al suplementar ovejas Ideal durante dos y cuatro semanas entorno a la encarnerada. Banchero et al., (2002), obtuvieron resultados similares cuando



suplementaron ovejas Corriedale durante 12 días previos a la ovulación. Otro aspecto a tener en cuenta es el mejoramiento forrajero y/o suplemento a utilizar en el flushing.

El presente trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto de distintas asignaciones de forraje en un flushing de 20 días de duración, previos a una encarnerada de otoño, sobre la tasa ovulatoria y fecundidad de ovejas Corriedale.

Se evalúa una pastura de *Lotus pedunculatus*= *Lotus major*= *Lotus uliginosus* cv. Grasslands Maku, una leguminosa perenne estival que hoy presenta una amplia utilización a nivel nacional, entre otras cosas por su producción anual de forraje mayor que la del *L. corniculatus*, con una aceptable producción de forraje invernal y capacidad de adaptación a condiciones especiales en suelos con elevada acidez, excesiva humedad y/o bajos niveles de fósforo (Carámbula et al., 1994).

## 2.REVISION BIBLIOGRAFICA

### 2.1 ASPECTOS BASICOS DE LA FISIOLOGIA DE LA REPRODUCCION

La oveja es un rumiante poliéstrico en el que la función reproductiva es dominada por dos ciclos. Un ciclo estral de 17 ( $\pm$  2) días de duración, y un ciclo anual de la actividad ovárica, determinado por el fotoperiodo que marca la estación de cría (Viñoles, 2003).

El proceso reproductivo en la oveja esta regulado principalmente por mecanismos neuroendocrinos, donde las hormonas cumplen un rol fundamental (Haresign et al., 1983; Blache et al., 2000; Foradori et al., 2002).

En el cuadro 1 se presenta las principales hormonas vinculadas a la reproducción.

Cuadro 1. Principales hormonas vinculadas a la reproducción.

Glándula productora	Hormona	Naturaleza química	Acciones principales
Hipotálamo	GnRH	Péptido	Regula la síntesis y liberación de las hormonas adenohipofisarias
	Oxitocina	Péptido	Estimula la contracción de músculos lisos
Hipófisis	FSH y LH	Glicoproteínas	Induce la ovulación y la espermatogénesis
	Prolactina	Proteína	Mantenimiento del cuerpo lúteo
Pineal	Melatonina	Esteroide	Regulación de la estación de cría y aparición de la pubertad
Gónadas	Progesterona	Esteroide	Mantenimiento de la preñez, regulación del ciclo estral
	Estrógenos	Esteroides	Inducción al celo, desarrollo de estructuras reproductivas y mamarías
	Andrógenos	Esteroides	Comportamiento sexual del macho, espermatogénesis
	Relaxina Inhibina	Proteína Proteína	Dilata el cuello uterino Inhibición específica de liberación de FSH
Utero	Prostaglandinas	Acidos Grasos	Inducción al parto, lisis del cuerpo lúteo, induce la ovulación y transporte de gametos

Nota: GnRH (hormona liberadora de gonadotropinas), FSH (hormona foliculoestimulante), LH (hormona luteinizante).

Fuente: adaptado de Fernández Abella, (1993) y Hafez, (1993).

El ciclo estral es una secuencia de eventos endocrinos, regulados a través de mecanismos de retroalimentación (*feedback*) positivos y negativos, por el hipotálamo, la hipófisis, el ovario (folículo y cuerpo lúteo) y el útero (Scaramuzzi et al., 1993; Viñoles, 2003).

La hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) induce y controla la liberación tanto de la hormona luteinizante (LH) como de la hormona foliculoestimulante (FSH) producidas por la hipófisis. La secreción de GnRH es regulada por la relación estrógeno/progesterona (Hafez, 1993; Foradori et al., 2002). Cuando los niveles de progesterona son elevados, y hay estrógenos, esta hormona ejerce un efecto negativo sobre la secreción de GnRH, y por ende sobre la de LH (McWilliams et al., 1998) y FSH (Padmanabhan et al., 2003). Por el contrario cuando disminuyen las concentraciones de progesterona, el estrógeno ejerce un efecto positivo a nivel del hipotálamo sobre la secreción de GnRH (Foradori et al., 2002).

La secreción de FSH es controlada en la hipófisis por la acción sinérgica del estrógeno y la inhibina. La secreción de LH es estimulada, durante la fase folicular por los estrógenos a nivel de la hipófisis, y en la fase luteal por la acción sinérgica de estrógenos y progesterona a nivel del hipotálamo (Joseph et al., 1995).

La FSH actúa sobre el folículo, estimulando el crecimiento folicular y la secreción de estrógeno. Por su parte la LH estimula la ovulación, el funcionamiento del cuerpo lúteo y la secreción de progesterona (Frandsen y Spurgeon, 1992).

### 2.1.1 Ciclo estral

Se define al ciclo estral como el número de días que transcurren entre dos estros consecutivos, y presenta cuatro fases según su manifestación: proestro, estro, metaestro y diestro (Frandsen y Spurgeon, 1992).

El proestro es el período de preparación para el estro, y tiene una duración de aproximadamente tres días (Fernández Abella., 1993). El descenso en los niveles de progesterona en el proestro, provoca un incremento en la frecuencia de pulsos de LH, y se estimula la secreción de estrógenos, induciendo el estro y los picos de LH y FSH (Campbell et al., 1999).

El estro o celo es el período en el cual la hembra es receptiva al macho, junto con el proestro comprenden la fase folicular del ciclo estral, y su duración varía entre 30 y 36 horas (Bindon et al., 1979). La duración del estro es

afectada por la raza, edad, estación del año y presencia del macho (Hafez, 1993).

La secreción de GnRH del hipotálamo estimula en la hipófisis la secreción de LH (Rabiee et al., 1997; Blanche et al., 2000), en el denominado día cero que coincide con el comienzo del estro (Scaramuzzi et al., 1993), para que al finalizar esta fase se produzca la ovulación.

Posteriormente durante la fase luteal, que comprende al metaestro y diestro, aumenta la concentración de progesterona al estar activo el cuerpo lúteo (McFarland et al., 2003).

La fase que sigue a la ovulación es el metaestro, durante la cual el cuerpo lúteo funciona e impide la ovulación. Un cuerpo lúteo totalmente desarrollado es característico de la fase diestro, que se da a partir del día 5-7 del ciclo estral, y continua durante toda la preñez si se produce la fecundación (Fernández Abella., 1993).

En el día 11-13 del ciclo estral, de no producirse la fecundación, comienza a aumentar la secreción de prostaglandina por parte del útero que induce la lisis del cuerpo lúteo, disminuyendo la concentración de progesterona (McWilliams et al., 1998; Viñoles, 2003). La regresión del cuerpo lúteo coincide con el inicio de la fase de proestro, comenzando así un nuevo ciclo.

### 2.1.2 Foliculogénesis

La foliculogénesis comprende al crecimiento del folículo y su pasaje a través de los distintos estadios de desarrollo, desde el momento en que emerge del *pool* de folículos formados durante la ovogénesis, hasta el momento en el cual es ovulado o entra en atresia (Montgomery et al., 2001; Peluffo, 2002). En la figura 1 se presenta la estructura básica de un folículo en las últimas etapas de desarrollo.

El proceso de ovogénesis comienza antes del nacimiento de la cordera (a los 50 días de gestación), llegando al nacimiento con un mínimo de folículos ováricos que contienen ovocitos primarios, el cual determina su máximo potencial reproductivo (Fernández Abella, 1993).

En la oveja post-púber la transformación del folículo primario en folículo ovulatorio tiene una duración de seis meses (Scaramuzzi et al., 1993; Cahill, 1981). Los folículos se pueden clasificar por su diámetro, área folicular, número de capas foliculares o presencia de algunas estructuras foliculares.

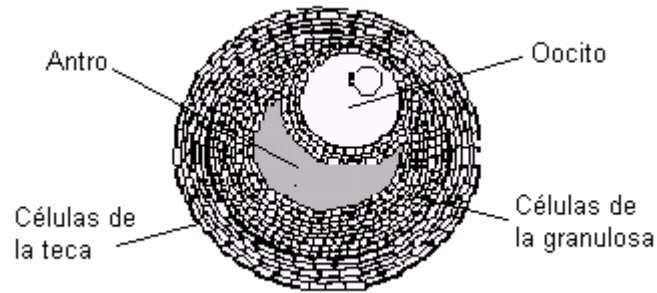


Figura 1. Estructura básica de un folículo en las últimas etapas de desarrollo (Adaptado de Viñoles, 2003).

En el crecimiento folicular se pueden distinguir dos etapas, la de crecimiento folicular inicial y la terminal (figura 2).

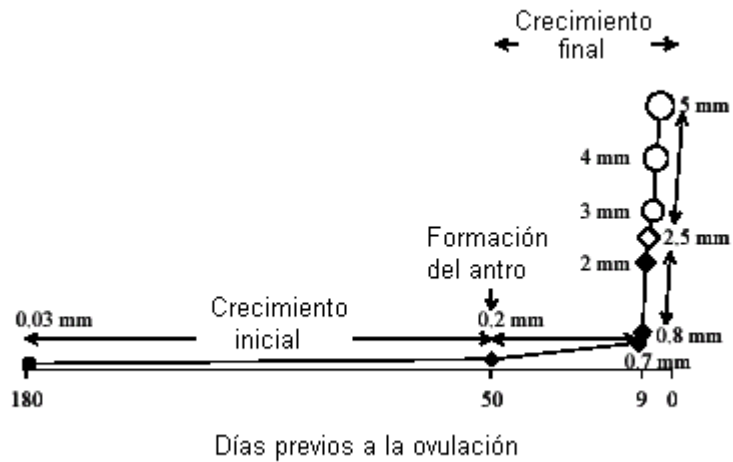


Figura 2. Diámetro de los folículos en función de la etapa de crecimiento y los días previos a la ovulación (Adaptado de Viñoles, 2003).

La etapa de crecimiento inicial comprende desde que el folículo primario de aproximadamente 0,03 mm de diámetro crece hasta alcanzar el estadio pre-anro con un diámetro de 0,2 mm, y tiene una duración de aproximadamente 130 días (Downing y Scaramuzzi, 1991).

Los folículos primarios constituyen la reserva potencial de folículos que podrán desarrollarse en el transcurso de la vida reproductiva del animal

(Peluffo, 2002). Esta etapa de crecimiento no es dependiente de las gonadotropinas, pero es influenciada por factores autócrinos y parácrinos (Viñoles, 2003).

Entre los factores mencionados anteriormente, Perks et al., (1995), señala que probablemente el factor de crecimiento asociado a la insulina (IGF-II) intervenga en la diferenciación de células del estroma en células de la teca secretoras de esteroides.

La etapa de crecimiento final comprende, desde que termina el crecimiento inicial (0,2 mm de diámetro) hasta la ovulación o atresia del folículo, y tiene una duración de aproximadamente 50 días (Viñoles, 2003).

En esta etapa es esencial la presencia de hormonas gonadotropicas, sin embargo, hasta que los folículos presentan un diámetro de alrededor de 0,5 mm no se detectan apreciables concentraciones de estrógeno (Scaramuzzi et al., 1993).

El factor de crecimiento asociado a la insulina (IGF-I) determina una mayor sensibilidad de las células de la granulosa a la FSH (Monget y Monniaux, 1995). La mayor sensibilidad de dichas células a la FSH provoca un incremento de la actividad de la enzima aromatasa de las células de la granulosa (Scaramuzzi et al., 1993). La enzima aromatasa sintetiza estrógenos a partir de la aromatización de los andrógenos (Driancourt, 2001).

El número de folículos que están prontos para ovular se fija 3 ó 4 días previos a la ovulación, y se distinguen dos etapas: el reclutamiento y la selección. La etapa de reclutamiento comienza aproximadamente 72 horas antes de la ovulación, en la fase de proestro, coincidiendo con la luteólisis, donde los folículos que presenten un diámetro mayor o igual a 2 mm en ese momento serán los capaces de transformarse en folículos preovulatorios (Fernández Abella, 1993).

El crecimiento de los folículos de 3 a 5 mm de diámetro ocurre en ondas (Bartlewsky et al., 1999; Viñoles et al., 1999; Evans et al., 2000), y la nutrición afectaría la dinámica folicular, determinando un mayor número de ondas por ciclo en animales de mejor condición corporal (Viñoles et al., 1999). El desarrollo de folículos que llegan a más de 3 mm estaría determinado por incrementos previos en la FSH circulante, que es la hormona del reclutamiento folicular (Rubianes, 2000). La secreción de FSH es estimulada por un incremento en el nivel de estrógenos al aumentar la actividad aromatasa (Driancourt, 2001).

La selección de los folículos dominantes no se da hasta que se produce la regresión luteal, ya que la lisis del cuerpo lúteo en cualquier etapa del ciclo estral es seguida por una ovulación a las 72 horas aproximadamente. Por lo tanto la selección de los folículos preovulatorios ocurre en la fase folicular temprana, proestro (Baird, 1983).

En las etapas finales del crecimiento folicular, los folículos pueden transferir su dependencia gonadotrópica de FSH, a la de LH (Campbell et al., 1999). La LH es la principal hormona involucrada en el crecimiento final del folículo dominante (Driancourt, 2001), no obstante para sensibilizar a los folículos al estímulo de la LH, es necesaria la FSH que aumenta el número de receptores de LH en la célula de la granulosa (Fernández Abella, 1993).

En esta etapa todos los folículos en crecimiento secretan inhibina que provoca una reducción en la concentración de FSH (Souza et al., 1998). Esta disminución en la concentración de FSH limita el número de folículos que eventualmente llegaran a ovular (Baird, 1983). Según Campbell, (1999), la habilidad de los folículos para responder a las gonadotropinas sería el mecanismo central en la selección folicular.

### 2.1.3 Tasa ovulatoria

La tasa ovulatoria se define como el número de ovocitos producidos por los ovarios en cada ciclo estral, y determina el número potencial de corderos a nacer para cada oveja (Banchemo et al., 2003).

Esta etapa refleja los procesos de reclutamiento y selección folicular. A mayor tasa de reclutamiento y menor presión de selección se da mayor tasa ovulatoria. Esta es determinante en el momento de definir el potencial reproductivo de la oveja de cría mediante su efecto sobre la prolificidad, pero también sobre la fertilidad de la majada (Azzarini, 1992).

Fernández Abella., (1993), señala que efectos genéticos y no genéticos afectan la tasa ovulatoria. Dentro de los factores genéticos, la raza determina las mayores diferencias, si bien la mayor parte de las razas ovinas presentan una tasa ovulatoria variable entre uno y dos, existen razas o líneas prolíficas que presentan modificaciones importantes en el crecimiento terminal de los folículos logrando tasas ovulatorias mayores a dos.

Como factores no genéticos, internos al animal, dentro de una misma raza se puede obtener una mayor tasa ovulatoria cuando las ovejas presentan al inicio de la encarnadura una muy buena condición corporal (Rhind y McNeilly, 1998), o un alto peso vivo (Ganzábal et al., 2003), existiendo una correlación

positiva entre el número de ovocitos liberados en cada ovulación y el peso del animal (Lindsay et al., 1975).

Como factor no genético externo, la alimentación juega un papel importante y dentro de ella los niveles energéticos y proteicos. Los primeros favorecen la selección folicular reduciendo el porcentaje de atresia (Haresign, 1981), mientras que los segundos aumentan el número de folículos reclutados (Knight et al, 1981).

El manejo farmacológico tiene efecto sobre la tasa ovulatoria (Fernández Abella, 1995) y el porcentaje de preñez (Viñoles et al., 2001). Utilizando suero de yegua preñada (PMSG) durante la fase folicular del ciclo estral, Scaramuzzi et al., (1988) y Banchemo et al., (2002), encontraron aumentos en la tasa ovulatoria. Por otro lado, Thompson y Smith, (1988), pusieron en evidencia que tratamientos exógenos con PMSG y FSH pueden aumentar sensiblemente la tasa ovulatoria mediante un mayor reclutamiento y una menor tasa de atresia.

#### 2.1.4 Perfiles hormonales

El cambio en la concentración relativa de las principales hormonas vinculadas a la reproducción se presenta en la figura 3.

La LH es secretada por pulsos. Durante la fase luteal (presencia del cuerpo lúteo) los pulsos son de gran amplitud y baja frecuencia (Leyva et al., 1998a), en cambio en la fase folicular o preovulatoria la frecuencia de pulsos aumenta y su amplitud disminuye (Haresign et al., 1983). Se presenta un pico de LH conocido como preovulatorio, cuatro días después de la luteólisis (Scaramuzzi et al., 1993).

La secreción de FSH no es pulsátil, sino por ondas, presentando su perfil dos picos marcados y pequeñas variaciones durante la fase luteal (Campbell et al., 1991). El primer pico coincide con el pico preovulatorio de LH y el segundo se produce unas 24-36 horas después en la cercanía de la ovulación (Scaramuzzi et al, 1993). Durante la etapa de proestro, los niveles de FSH están relacionados con la tasa ovulatoria, mientras que la magnitud del segundo pico se relaciona positivamente con las tasas ovulatorias de los ciclos siguientes (Lahlou-Kassi et al., 1984). Los niveles basales de FSH son regulados por el estradiol a través de un mecanismo de *feedback* negativo (Viñoles et al., 2002).



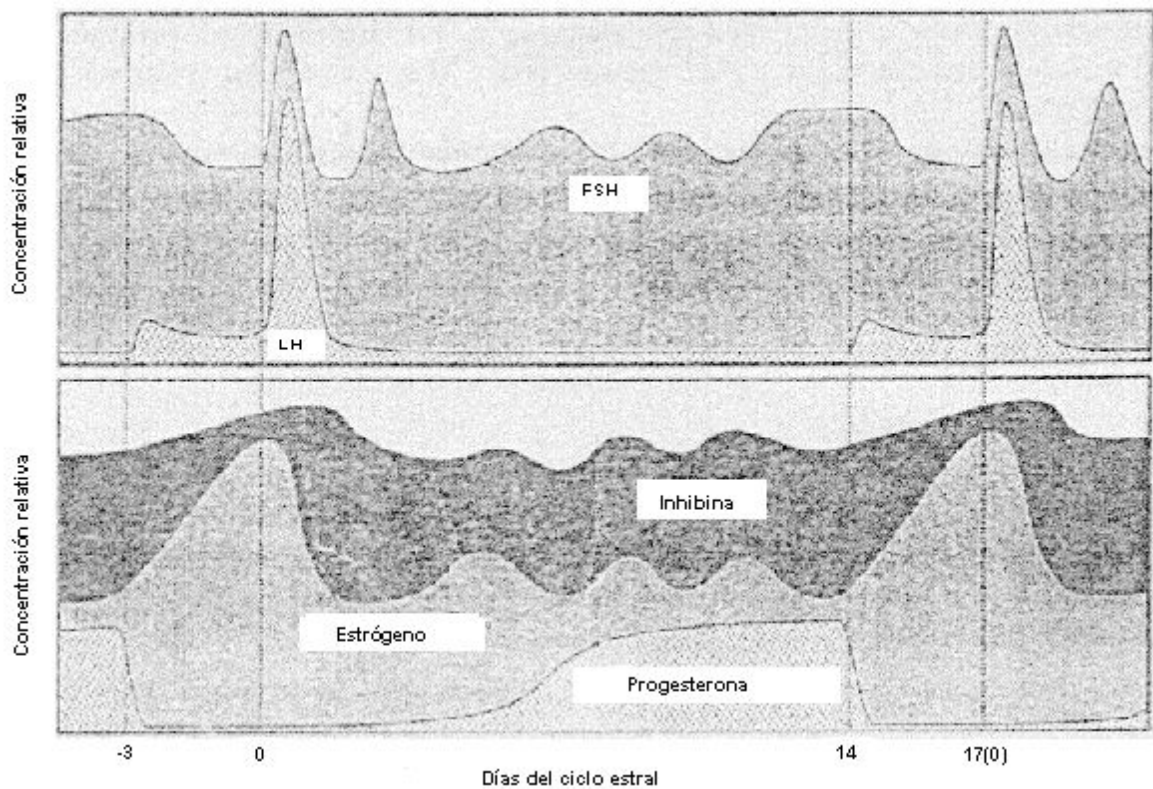


Figura 3. Perfil de los niveles de las principales hormonas gonadales y hipofisiarias durante el ciclo estral (Adaptado de Scaramuzzi et al., 1993).

Los estrógenos son secretados por los folículos preovulatorios. Presentan un pico previo a la ovulación que induce el comienzo del celo, y de tres a cuatro picos de menor magnitud durante el resto del ciclo (Haresing et al., 1983).

La progesterona alcanza su nivel máximo en plasma entre los días 7 y 8 del ciclo estral, en el diestro (Leyva et al., 1998b), descendiendo paulatinamente sus niveles en los días subsiguientes hasta el día 14 o 15, en la luteólisis, donde se produce una caída brusca en su concentración siempre y cuando no se haya producido la fecundación (McWilliams et al., 1998). Los niveles circulantes de progesterona son proporcionales al número de cuerpos lúteos presentes, hasta un número máximo de 3 ó 4 cuerpos lúteos (Fernández Abella, 1993).

### 2.1.5 Influencia de la alimentación sobre los niveles hormonales

Dunn y Moss, (1992), citan trabajos en donde se han advertido incrementos en la frecuencia de pulsos de LH en la fase folicular de ovejas que presentaron una mejor nutrición comparadas con animales controles.

Haresing, (1981); Rhind et al., (1991) trabajando con ovejas en condiciones corporales contrastantes, observaron que aquellas ovejas de pobre condición presentaban menores niveles de LH.

Rhind et al., (1991), al evaluar ovejas con diferentes condiciones corporales encontraron una mayor respuesta al agregado externo de GnRH en liberación de LH en aquellas ovejas de mejor condición. Esto sugiere que el mecanismo de *feedback* negativo ejercido por las bajas concentraciones de estrógenos afecta a la hipófisis de forma diferencial según la condición del animal, siendo la sensibilidad negativa de dicha glándula mayor en animales de pobre condición.

Otro factor a tener en cuenta, además de la condición corporal previo a la encarnerada, es el nivel de consumo. Los niveles plasmáticos de LH parecen variar según el nivel de consumo independientemente de la condición corporal (Azzarini, 1985).

En ovejas Scottish Blackface con distintos niveles de consumo (alto y bajo), aquellas con un menor nivel presentaron concentraciones plasmáticas de LH inferiores (Rhind et al., 1991). Paralelamente en este trabajo se midió el efecto del agregado exógeno de GnRH para ambos niveles de consumo, y no se encontraron diferencias significativas en la liberación de LH entre ambos tratamientos. Esto permitió concluir que un bajo nivel de consumo aumenta la sensibilidad del hipotálamo al *feedback* negativo ejercido por los estrógenos.

En cuanto a la FSH, los estudios sobre los cambios en la concentración sanguínea de esta hormona al someter ovejas a distintos planos nutricionales no han arrojado resultados del todo concluyentes (Findlay y Cumming, 1976; Ritar y Adams, 1988; Rhind et al., 1991; Dunn y Moss, 1992; Catalano y Sirhan, 1993).

Al medir la respuesta en la liberación de FSH ante el agregado exógeno de GnRH, con tres niveles de consumo diferentes (1/3 de mantenimiento, mantenimiento y 2 mantenimiento) se detectó una mayor producción de FSH en respuesta al agregado de GnRH en aquellas ovejas con el plano nutritivo más bajo (1/3 de mantenimiento). Esto indicaría una respuesta distinta a la

presentada por la LH frente a la GnRH ante condiciones variables de alimentación (Findlay y Cumming, 1976).

Downing et al., (1995a), al suplementar ovejas con grano de lupino obtuvieron aumentos en la tasa ovulatoria que no se asociaron a modificaciones en la concentración de FSH. Esto sugiere que la nutrición afecta a nivel del ovario la sensibilidad del folículo a la acción de la FSH (Ritar y Adams, 1988; Viñoles, 2003).

Fernández Abella, (1993), señala que aumentos en la tasa ovulatoria pueden ser explicados por un cambio en la sensibilidad ovárica frente a la FSH (producto de secreciones autócrinas y parácrinas a nivel de los folículos), y no como consecuencia de un aumento en la concentración de esta hormona en sí. Algunos de estos factores han sido identificados: la inhibina, el factor de crecimiento epidermal (EGF), los factores alfa y beta de crecimiento (TGF $\alpha$  y TGF $\beta$ ), el factor de crecimiento asociado a la insulina (IGF-I), la proteína de regulación folicular (FRP) y el inhibidor del crecimiento folicular (FGI).

Cambell, (1999), concluye que se puede reforzar la hipótesis de que factores autócrinos y parácrinos modulan la acción de las gonadotropinas en las células foliculares, aumentando IGF-I o disminuyendo TGF y EGF la diferenciación de células de la granulosa y teca.

En un estudio donde se evaluó dos planos nutricionales distintos, se encontró una menor concentración de estrógenos en aquellas que presentaban un plano nutricional más alto. El descenso de la concentración de estrógenos se asocia con un incremento en la concentración de FSH (Adams et al., 1997; Viñoles et al., 2002; Viñoles, 2003).

Existe información respecto a que un aumento en el plano nutritivo implica descensos en la concentración de progesterona (Williams y Cumming, 1982; Parr et al., 1992; Lozano et al., 1998).

## 2.2 NUTRICION Y TASA OVULATORIA

La nutrición es el factor ambiental más importante que afecta, directa e indirectamente a la reproducción, y puede ser definida en términos de aporte energético, proteico y en menor grado otros componentes tales como minerales y vitaminas (Azzarini, 1985; Fernández Abella, 1993).

La tasa ovulatoria es influenciada por varios factores, pero uno de los más importantes es la nutrición (Smith, 1985; Downing y Scaramuzzi, 1991;

Downing et al., 1995; Luque et al., 2000; Blache et al., 2000; Muñoz-Gutiérrez et al., 2002; Viñoles, 2003).

La nutrición previa al período de encarnerada tiene un efecto sobre la tasa ovulatoria. Trabajando con ovejas, al evaluar dos planos nutritivos, uno moderado donde se cubrían los requerimientos de mantenimiento y otro elevado donde se superaban dichos requerimientos, Lassoued et al., (2004), obtuvieron una mayor tasa ovulatoria en el plano nutritivo alto con respecto al bajo.

Los efectos de la nutrición sobre el comportamiento reproductivo de las ovejas se clasifican en largo, mediano y corto plazo, y son definidos por Gunn, (1983) como:

- Largo plazo, a los que se dan desde las etapas fetales hasta alcanzar la pubertad y repercuten en el animal adulto.
- Mediano plazo, aquellos que se manifiestan dentro de un ciclo reproductivo o en el ciclo siguiente. Estos son de importancia desde el punto de vista reproductivo, en el período comprendido entre el destete y la encarnerada siguiente.
- Corto plazo, a los que se manifiestan directamente en los períodos de preencarnerada y encarnerada.

En esta revisión se considerarán los efectos de corto plazo como determinantes de la performance reproductiva.

Dentro de los efectos de corto plazo se define como “efecto estático” a los incrementos en la tasa ovulatoria que se dan por encima de un peso crítico (razas laneras 37-40 kg) para ovejas de igual tamaño, y “efecto dinámico” a los que permiten incrementos en la tasa ovulatoria debido a cambios en el peso vivo y condición corporal logrados tres semanas previas a la encarnerada (Coop, 1966; Azzarini, 1985; Orcasberro, 1985; Fernández Abella, 1993). A su vez el incremento en la tasa ovulatoria sin modificar el peso vivo ni la condición corporal en períodos de 4-6 días, se conoce como “efecto inmediato” (Azzarini, 1992; Pearse et al., 1994).

En la revisión realizada por Catalano y Sirhan, (1993) se concluye que la administración de dietas y suplementos ricos en energía, proteína o ambos a la vez, previo a la encarnerada por periodos inferiores a un ciclo estral, desencadenan una serie de cambios metabólicos y endócrinos que alteran los

procesos de crecimiento, maduración y/o atresia foliculares, provocando un aumento en la tasa ovulatoria y prolificidad.

El contenido energético y proteico de la dieta puede influir sobre la tasa ovulatoria en forma independiente uno del otro. No obstante, el nivel de uno de estos componentes puede influir sobre la respuesta del otro, y para alcanzar un efecto máximo puede ser necesario un incremento de ambos (Smith, 1985). Un ejemplo de lo anterior lo representa el grano de lupino, que ha resultado un efectivo suplemento para lograr mayores niveles de tasa ovulatoria y prolificidad, que se podrían atribuir a su tenor energético, proteico o a ambos (Catalano y Sirhan, 1993). Al evaluar en un flushing distintas dietas, se encontraron incrementos en la tasa ovulatoria en aquellas que presentaban mayores contenidos proteicos y energéticos (Molle et al., 1995).

Teleni et al., (1989a; b), intentaron determinar la importancia relativa de la proteína y energía como componentes de la dieta, e indican que la energía es el más importante. Sin embargo más del 35 % de los requerimientos de glucosa en los rumiantes provienen de aminoácidos, por lo que un incremento en la proteína resulta en un incremento de glucosa. Al inyectar en sangre substratos energéticos, incluyendo glucosa, se incremento la tasa ovulatoria en ovejas, lo que llevó a concluir que la energía provee una importante señal en la regulación de la ovulación (Teleni et al., 1989b).

Una mezcla de aminoácidos ramificados inyectados en sangre también resultó en un incremento de la tasa ovulatoria (Downing et al., 1995b). Esto indica que la vía por la cual los aminoácidos permitirían obtener un incremento en la tasa ovulatoria, podría estar relacionada con el aumento en la concentración de glucosa.

En estudios más recientes se destaca la importancia de las hormonas metabólicas en la mediación de los efectos de la nutrición sobre la tasa ovulatoria. Muñoz-Gutiérrez et al., (2002), señalan que la insulina, hormona de crecimiento (GH), IGF-1 y leptina cumplen un rol importante en el crecimiento folicular y en la mediación de los efectos de la nutrición sobre la tasa ovulatoria.

La insulina influye en la respuesta del ovario a las gonadotropinas. Una de las funciones de la insulina es como indicadora de la concentración de glucosa, y esta a su vez está relacionada la energía disponible en el ovario (Viñoles, 2003).

Para que el proceso reproductivo se desarrolle normalmente se requieren determinadas concentraciones de GH, asociándose altas concentraciones de

esta hormona con mayores niveles de insulina e IGF-1, y menores niveles de leptina (Kadokawa et al., 2003).

La concentración de IGF-1 aumenta luego de un periodo corto de suplementación con lupino (Blache et al., 1996). Este factor afecta la respuesta de los folículos a las gonadotropinas, y reduce la tasa de atresia incrementando el número de folículos que llegan a la etapa ovulatoria (Monget y Monniaux, 1995). La presencia de IGF-1 y de sus receptores en el hipotálamo indica, que al igual que la insulina, este factor cumpliría un rol en la mediación de los efectos de la nutrición sobre la secreción de gonadotropinas (Blache et al., 2000).

La leptina es una hormona proteica producida por las células adiposas, y actúa regulando la tasa de consumo y el balance energético (Muñoz-Gutiérrez et al., 2002). En animales de alta condición corporal la leptina inhibe la secreción de estrógenos por los folículos, y parece ser la hormona que mejor describe el equilibrio entre las concentraciones de FSH y estrógenos (Viñoles, 2003).

### 2.2.1 Nutrición energética

Existen dificultades prácticas para determinar el “status energético” del animal, como consecuencia de esto se ha optado por usar el peso vivo y estado corporal como estimadores de dicho parámetro.

Jefferies, (1961), estableció una escala de seis puntos, que va desde 0 a 5, para determinar en forma subjetiva la condición corporal de los ovinos. La medida de condición corporal, aunque se registre en forma individual, no puede ser utilizada como una medida de la respuesta ovulatoria de la oveja individualmente considerada. Por esto no se puede suponer que una determinada oveja producirá una determinada cantidad de óvulos porque haya sido evaluada en un nivel específico de condición corporal. Mejorando la condición corporal de la oveja aumenta la probabilidad de que desprenda uno o dos óvulos adicionales, pero no lo garantiza (Gunn, 1983).

La tasa ovulatoria presenta respuesta al consumo de energía en el corto plazo, solo dentro de un rango intermedio específico de condición corporal (2,5-2,75). Este rango varía según el genotipo, y fuera del mismo es la condición corporal alcanzada la que importa, y no hay efecto adicional positivo o negativo del consumo de energía aplicado (Gunn, 1983).

Viñoles et al., (2002), utilizando la escala de 0 a 5 de condición corporal, evaluaron dos condiciones corporales contrastantes en ovejas Ideal, una alta



condición (4,1 puntos) frente a una baja condición (1,9 puntos). Los resultados encontrados pusieron en evidencia una mayor tasa ovulatoria, mayor concentración de FSH y menor concentración de estradiol en las ovejas de alta condición con respecto a las de baja. Esto los llevó a concluir que las mayores concentraciones de FSH en las ovejas de alta condición permiten alargar el período de reclutamiento, determinando una mayor tasa ovulatoria.

Rattray et al., (1980), señalan que una oveja liviana que gana peso a la encarnerada puede tener una tasa ovulatoria similar o mayor que una oveja más pesada que mantiene o pierde peso.

Kelly y Johnstone, (1982); Azzarini, (1992), destacan que la respuesta en términos de tasa ovulatoria en una amplia gama de genotipos es de alrededor del 2 % por cada kg adicional de peso vivo al inicio de la encarnerada.

Lindsay et al., (1975), encontraron que majadas Merino australiano en Australia presentaron incrementos de 5,9 % en la tasa ovulatoria por cada 5 kg promedio de aumento de peso vivo de la majada durante la encarnerada (efecto dinámico).

A nivel nacional, Azzarini, (1985), trabajando con ovejas Corriedale, generó una diferencia de 4-5 kg de peso vivo 4 semanas previas al inicio de la encarnerada, entre dos grupos de animales que pastorearon a distinta dotación durante el post-destete. A partir de ese momento se dividieron los grupos originales en dos, permaneciendo una mitad en el campo natural y la otra mitad en pradera convencional de tercer año. Este trabajo permitió establecer un incremento en la tasa ovulatoria como consecuencia del pasaje de los animales a pradera, independientemente del nivel alimenticio en el post-destete, pero este incremento resultó ser mayor en aquellos animales que provenían del plano bajo (1,18 vs. 1,33 en los del plano alto y 1,14 vs. 1,36 en los del plano bajo). Los cambios en tasa ovulatoria se produjeron a pesar de no existir diferencias de peso muy marcadas, y teniendo ambos grupos ganancias de peso similares durante ese período.

Trabajando con ovejas Merino que provenían de un nivel de alimentación bajo post-destete, al pasarlas a pradera previo a la encarnerada se incrementó en un 17 % la tasa ovulatoria (Cáceres et al., 1997).

La condición corporal es un parámetro utilizado para estimar el nivel de reservas energéticas del animal. En tal sentido Cáceres et al., (1997), señalan la importancia de dicha característica, que a pesar de ser subjetiva es repetible y reproducible, y presentan un resumen de trabajos realizados sobre el efecto

de la condición corporal sobre la tasa ovulatoria que se reproduce en el cuadro 2.

Cuadro 2. Efecto de la condición corporal sobre la tasa ovulatoria.

Referencia	Raza	Condición corporal	Tasa ovulatoria
Gunn et al.,(1969)	Scottish Blackface	3 1,5	Aumento significativo ( $P \leq 0,01$ )
Gunn et al.,(1972)	Scottish Blackface	3 1,5	1,83 1,07
Gunn y Doney (1975)	Scottish Blackface	3 2,5 1,5	1,93 1,60 1,09
Gunn et al.,(1991)	North Country Cheviot	$\leq 2,25$ $\geq 3$	1,82 2,03

Fuente: adaptado de Cáceres et al., (1997).

Gunn et al., (1991), trabajando con dos razas (Welsh Mountain y Brecknock Cheviot) y dos tratamientos de pastoreos contrastantes durante 4 semanas previas a la encarnerada (2 semanas con alta asignación y 2 con baja asignación y viceversa), encontraron que la mayor tasa ovulatoria y porcentaje de parición se produjo en el grupo de ovejas que recibieron la mejor asignación de forraje en el período inmediatamente anterior al servicio. La respuesta reproductiva en general fue mayor en las ovejas que presentaban una condición corporal de 2,5 comparadas con aquellas de condición  $\geq 3$  y  $\leq 2,25$ .

En ovejas de pobre condición corporal, sin cambiar su peso vivo, al realizar una suplementación energética se incrementó su tasa ovulatoria. En este caso el flushing actuaría incrementando el aporte de energía al animal, permitiendo así que su balance energético se vuelva positivo sin tener que cambiar su peso o condición corporal. De esta manera surge el concepto de “status nutricional neto” como determinante de la performance reproductiva de las ovejas durante la encarnerada (Lindsay, 1976; Orcasberro, 1985).

En cuanto a la duración del flushing energético, Banchemo et al., (2002), citan trabajos en Australia donde con períodos relativamente cortos de suplementación con grano de lupino (*Lupinus angustifolius*) de alto contenido proteico y energético se lograba aumentar la tasa ovulatoria en 25 y 30 %.



A su vez, en Uruguay, se registró un incremento de 12 % de la tasa ovulatoria en ovejas ideal al someterlas a un flushing durante cuatro semanas con distintos tipos de grano a razón de 0,4 kg animal<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup> (Azzarini, 1990).

Teleni et al., (1989a), logró incrementar la tasa ovulatoria al realizar inyecciones intravenosas de acetato y/o glucosa durante 9 días previos a la ovulación. Parr et al., (1992) encontraron que entre el día 10 y 14 del ciclo estral se encuentra el período más adecuado para suplementar y poder estimular la tasa ovulatoria.

En cuanto al nivel energético capaz de estimular el comportamiento reproductivo, Smith, (1985), estableció que por cada Megajoules (MJ) de energía digestible consumida por encima de los requerimientos de mantenimiento, se incrementa en 1,5 % el porcentaje de ovejas con ovulaciones múltiples.

Catalano y Sirhan, (1993), determinaron que por cada MJ de energía metabolizable (EM) ingerido diariamente por encima de 12 MJ (requerimiento para mantenimiento) durante los últimos 12 días del ciclo estral y estudiando hasta los 17 MJ de EM, aumentó el porcentaje de ovejas con ovulaciones múltiples en alrededor del 8 %.

Se plantean algunos modelos con relación a los mecanismos por los cuales una dieta rica en energía estimula el comportamiento reproductivo. Un modelo se basa en que las enzimas microsomaes hepáticas poseen capacidad de metabolizar esteroides (Thomas et al., 1987), por lo que el efecto de *feedback* negativo ejercido por dichas hormonas a nivel hipotálamo-hipófisis sería menor, y desencadenaría una mayor producción de gonadotropinas.

Smith, (1988), planteo que las dietas energéticas provocan un aumento de glucosa e insulina permitiendo un ahorro de proteína que no será metabolizada como fuente de energía, por lo que habría una mayor retención temporal de nitrógeno que aumentaría la síntesis de enzimas microsomaes hepáticas.

Otro modelo sugiere que el consumo energético estimula la secreción de gonadotropinas, las cuales serían las responsables de la mayor tasa ovulatoria. Se ha postulado que la insulina podría tener una acción directa sobre el hipotálamo estimulando la secreción de GnRH y por lo tanto la de FSH y LH, o bien podría estar sensibilizando el tejido ovárico para la acción de las mencionadas hormonas gonadotrópicas (Catalano y Sirhan, 1993).

### 2.2.2 Nutrición proteica

Dentro de los primeros trabajos que atribuyen al alto contenido proteico de la dieta como factor determinante del efecto flushing se encuentra el de Knight et al., (1975). Según estos autores el suministro de grano de lupino permitió obtener mejoras significativas en el porcentaje de parición. Si bien Croker et al., (1985), no obtuvieron los mismos resultados, son varios los autores que confirman lo obtenido por Knight y su grupo (Lindsay, 1976; Teleni et al., 1989; Croker et al., 1990).

Existe dificultad para conocer el efecto de la nutrición proteica sobre el comportamiento reproductivo, debido a la degradación que las proteínas sufren a nivel del rumen, lo que implica que no sea absorbida en la misma forma que es consumida (McNabb et al., 1993). También se debe tener en cuenta la interacción energía-proteína, lo que hace más difícil su cuantificación (Gunn, 1983).

Con relación a la duración del flushing proteico, Stewart y Oldham, (1986), demostraron que el consumo de grano de lupino ( $500\text{g animal}^{-1}\text{ día}^{-1}$ ) en los días -8 a -5 antes de la ovulación provoca mayores tasas ovulatorias que al suministrarlo en los días -4 a -1. Catalano y Sirhan, (1993), destacan un trabajo donde al aumentar el contenido proteico de  $300$  a  $380\text{ g día}^{-1}$  de un suplemento administrado durante 8 días (entre los días -7 y el celo) se registro un aumento en la tasa ovulatoria. Además cuando dichas dietas se suministraron durante todo el ciclo estral, los resultados no difirieron de los anteriores.

Nottle et al., (1990), suministraron grano de lupino a ovejas Merino durante 7 días, comenzando el día 3, 7 u 11 del ciclo estral, y posteriormente indujeron ovulación al inyectar una hormona luteolítica al sexto día del flushing. Los autores a partir de los resultados que obtienen concluyen, que el aumento en la tasa ovulatoria no depende del estado del ciclo en el cual la suplementación comienza o del momento donde se induce luteólisis, sino que la respuesta ovulatoria al consumo de lupino se desencadena en los días próximos a la regresión luteal.

Luque et al., (2000), destacan que el periodo crítico para lograr aumentos en la tasa ovulatoria al suplementar con proteína sería 6 días antes de la ovulación. De esta manera se incluyen los días 10 a 14 del ciclo estral donde ocurren la mayoría de los factores que afectan la tasa ovulatoria (Lindsay, 1976). Esto coincide con lo señalado para flushing energético, y reafirma lo señalado previamente donde varios autores concuerdan en que períodos cortos de suplementación previo a la encarnera permiten obtener incrementos en la tasa ovulatoria.

Respecto del nivel mínimo de proteína capaz de ejercer un efecto estimulador, Catalano y Sirhan, (1993), destacan que aquellos grupos de ovejas que consumen más de 125 g día<sup>-1</sup> de proteína digestible (PD) por cabeza presentan un 20 % más de ovulaciones múltiples que aquellas con menor consumo.

En ovejas Merino australiano el nivel de consumo requerido para mantenimiento es de 35 g de proteína cruda (PC) por día, y trabajando con cinco raciones diferentes, al aumentar este nivel a 75 g de PC por día aumentó la tasa ovulatoria, pero no lo hizo cuando se incrementó el consumo a 150 g de PC por día (Fletcher, 1981).

Se conocen a nivel internacional una serie de trabajos donde al suplementar con grano de lupino se obtienen incrementos en la tasa ovulatoria (Knight et al., 1975; Radford et al., 1980; Fletcher, 1981; Nottle et al., 1988; Kosior-Korzecka y Bobowiec, 2003).

Ritar y Adams, (1988), suplementando con grano de lupino ovejas Merino de 43,6 kg, de peso vivo promedio, a razón de 0,6 kg animal<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>, obtuvieron una tasa ovulatoria de 1,4 en el suplementado frente a 1,19 en el testigo.

Suplementando a razón de 0,5 kg animal<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup> con grano de lupino a ovejas Merino, Crocker et al., (1990), obtuvieron una tasa ovulatoria de 1,57 y un 54,8 % de ovejas con preñez múltiple en el suplementado, en comparación a 1,38 y 32,2 % del testigo.

También existe acuerdo en los distintos trabajos en parámetros como porcentaje de parición (Knight et al., 1975), muy probablemente como consecuencia del aumento en la tasa ovulatoria verificado.

Con el propósito de determinar el camino que la proteína dietaria utiliza para aumentar la prolificidad se han estudiado las concentraciones sanguíneas de LH, FSH y aminoácidos de cadena ramificada (leucina, valina e isoleucina), pero aún no se ha podido determinar concretamente los caminos seguidos por la proteína para ejercer sus efectos (Catalano y Sirhan, 1993).

En lo que refiere a la LH, algunos autores al comparar animales que reciben dietas con alto porcentaje de proteína y animales que reciben dietas de mantenimiento, no han encontrado diferencias en el nivel de esta hormona (Radford et al., 1980; Smith, 1988) y en la frecuencia de la misma (Radford et al., 1980). No obstante, Dunn y Moss, (1992), citan trabajos donde se han advertido incrementos en la frecuencia de pulsos de LH en la fase folicular de

ovejas que presentaron mayor tasa ovulatoria a causa de una mejor nutrición comparadas con animales controles.

Davis et al., (1981), señalan que ovejas con ovulaciones múltiples registran mayores niveles de FSH comparadas con ovejas de ovulaciones simples entre los días -8 a -3 previo a la ovulación. También en ovejas alimentadas con dietas ricas en proteína se observó un claro estímulo en el comportamiento reproductivo (Thompson y Smith, 1988; Smith, 1988) acompañado de un mayor nivel de FSH durante el período denominado estratégico para lograr una mayor tasa ovulatoria (Smith, 1988).

Thompson y Smith, (1988), administraron FSH exógena a animales con dietas altas o bajas en proteína y no observaron diferencias en la tasa ovulatoria entre los grupos estudiados. A partir de estos resultados sugirieron que los mecanismos que provocan un aumento en la tasa ovulatoria inducidos por proteína están enmascarados por la administración de FSH exógena.

Dentro de las alternativas que intentan explicar el camino por el cual la proteína aumenta la concentración de FSH Thomford et al., (1983) y Thomas et al., (1987) propusieron un modelo donde la proteína en la dieta estimula a las enzimas microsomales hepáticas que metabolizan esteroides. De esta manera al disminuir la concentración sanguínea de esteroides ováricos se tendría un menor *feedback* negativo de dichas hormonas sobre el eje hipotálamo-hipófisis lo que desencadenaría una mayor secreción de FSH.

Existen resultados contradictorios, ya que al suministrar fenobarbital (inductor de la actividad de enzimas microsomales hepáticas), si bien estimuló la tasa ovulatoria (Thomas et al., 1987), no provocó un aumento en la concentración sanguínea de FSH (Smith et al., 1990). Estas contradicciones llevan a que los resultados no sean del todo concluyentes acerca de la participación de las hormonas gonadotrópicas como factores responsables del aumento de la tasa ovulatoria (Catalano y Sirhan, 1993). Radford et al., (1980) y Ritar y Adams, (1988), señalan que los aumentos obtenidos en la tasa ovulatoria al suplementar con dietas proteicas podrían deberse a una mayor sensibilidad ovárica a las gonadotropinas, y no a cambios en las concentraciones de dichas hormonas hipofisarias.

También se ha puesto especial atención en la calidad de la dieta proteica, indicándose que dietas con un elevado nivel proteico, que contienen una alta proporción de proteínas no degradables a nivel ruminal, serían las que ejercen la mayor estimulación sobre el comportamiento reproductivo (Catalano y Sirhan, 1993).

Se atribuye esta respuesta al tipo de suplementación, ya que el grano de lupino presenta un alto contenido de PC, mayor a 30 %. Sin embargo, al incrementar el nitrógeno en la dieta mediante el uso de urea no se logró incrementar la tasa ovulatoria, lo que implica que otros factores como la baja degradabilidad ruminal y/o el aporte energético del grano de lupino podrían ser los responsables del incremento de la performance reproductiva y no el mayor contenido de PC (Thompson et al., 1973).

Hume, (1974), sostiene que la respuesta en términos reproductivos al suministro de lupino, estaría más asociada a la cantidad de proteína sobrepasante que éste posee, que al consumo de proteína y/o energía por parte del animal. Existen resultados contradictorios, donde se observó que los valores de tasa ovulatoria obtenidos por el consumo de grano de lupino se correlacionan mejor con su aporte de energía metabolizable ( $R^2=0,87$ ), que con el aporte proteico ( $R^2=0,40$ ) (Catalano y Sirhan, 1993).

Knight et al., (1975), trabajando con ovejas Merino australiano y Corriedale compararon dos dietas con la misma cantidad de nitrógeno, una con lupino contra otros suplementos con 50 % de nitrógeno no proteico. Los resultados evidenciaron un aumento en la tasa ovulatoria, en el porcentaje de mellizos y número de ovejas paridas en el tratamiento con lupino, mientras que el otro tratamiento no presentó diferencias significativas en términos reproductivos cuando fue comparado con el testigo sin suplementar.

En ovejas Coopworth al inyectar en el abomaso distintas fuentes proteicas, se incrementó la tasa ovulatoria de 1,43 previo al tratamiento a 1,80 (Cruickshank et al., 1988). Esto indica la importancia de que la proteína suministrada no sea degradada en el rumen, permitiendo de esta forma obtener una mayor cantidad de aminoácidos disponibles a nivel intestinal.

Nottle et al., (1988), obtuvo resultados similares al suministrar distintas fuentes de nitrógeno como suplemento (grano de lupino y caseína tratada con formaldehído) a ovejas Merino australiano, registrando respuestas en términos tanto de tasa ovulatoria como ovejas con ovulaciones dobles, atribuibles al aporte de proteína sobrepasante por los lupinos.

Al comparar el uso de distintos granos de leguminosas como fuentes proteicas (con igual contenido energético pero diferentes niveles de proteína), se obtuvo una mayor tasa ovulatoria en el que se utilizó lupino, seguido por el tratamiento con pellet de soja, y se obtuvo el peor resultado cuando se suplementó con guisantes (Davis et al., 1981).

Catalano y Sirhan, (1993) en un trabajo con ovejas Merino a las que se les suministró un suplemento con alta proporción de harina de pescado (proteína de baja degradabilidad ruminal) durante un período menor a un ciclo estral, encontraron aumentos en la tasa ovulatoria, porcentaje de ovulaciones múltiples y prolificidad en aquellos animales que recibieron dicha dieta frente a un testigo sin suplementar.

Luque et al., (2000), señalan que los taninos condensados que se encuentran en algunas especies forrajeras tienen la habilidad de proteger a la proteína dietaria de la degradación ruminal. En *L. corniculatus* la acción de los taninos condensados reduce la degradación de proteína en el rumen (McNabb et al., 1996).

Waghorn et al., (1987), trabajo con dos lotes de ovejas Romney Marsh que pastoreaban *L. corniculatus*. Un lote fue el control, y al otro lote se le realizó una inyección intraruminal de polietilenglicol (PEG) que evita que los taninos formen complejos con las proteínas, evitando la protección a la degradación ruminal. Estos autores encontraron que en el lote control se incrementa la absorción de aminoácidos esenciales en el intestino delgado en un 62 % en comparación al tratado con PEG. Considerando el incremento por aminoácido, este fue para valina (89 %), isoleucina (94 %) y leucina (30 %).

Min et al., (1999), registraron una mayor tasa ovulatoria en ovejas que pastorearon *L. corniculatus* en comparación a las que se le ofreció una pastura de raigrás perenne y trébol blanco.

El *L. uliginosus* también presenta un elevado contenido de taninos condensados afectando la degradación de la proteína en el rumen (Walton et al., 2001). En nuestro país, trabajando con ovejas Corriedale que fueron inyectadas con prostaglandina con el objetivo de sincronizar celo, y que estuvieron 12 días previos a la ovulación en una pastura de *L. uliginosus* (cv. Maku), se observó un mayor número de ovulaciones dobles (42 % vs. 24 %) con relación al control que pastoreo campo natural (Banchero et al., 2002).

La mayor absorción de aminoácidos esenciales en el intestino delgado a causa de la menor degradación de la proteína en rumen, podría ser una de las vías por la cual la proteína incrementa la tasa ovulatoria. Catalano y Sirhan., (1993), citan autores que encontraron que existiría una fuerte relación entre tasa ovulatoria y la concentración sanguínea de aminoácidos de cadena ramificada (valina, leucina e isoleucina).

Waghorn y Smith, (1990) realizaron un ensayo con dietas que aportaban un adecuado y alto contenido proteico y se evaluó la tasa ovulatoria y la



concentración sanguínea de aminoácidos. El grupo que consumió un alto contenido proteico presenta mayor tasa ovulatoria, similar concentración de aminoácidos no esenciales y un incremento significativo en las concentraciones de aminoácidos de cadena ramificada y otros aminoácidos esenciales ( $p < 0,05$ ). Además en las ovejas que consumieron la dieta de elevado tenor proteico y que presentaron una sola ovulación, el incremento en la concentración de aminoácidos de cadena ramificada fue solo de 27 %, para aquellas ovejas con dos ovulaciones fue de 52 % y para las que tuvieron tres ovulaciones fue del 100 %. Los animales que recibieron una concentración proteica más baja y tuvieron una o dos ovulaciones no presentaron diferencias en la concentración de dichos aminoácidos.

Downing et al., (1990), en un ensayo en que se administró por vía intravenosa aminoácidos de cadena ramificada, obtuvieron un aumento de la tasa ovulatoria ( $p < 0,02$ ), y un incremento significativo ( $p < 0,001$ ) en los niveles sanguíneos de insulina, sin aumentar los niveles séricos de FSH y prolactina, ni los intervalos de pulsos de LH. Estos autores proponen que la insulina u otras hormonas relacionadas con el metabolismo podrían estar involucradas en la respuesta ovárica observada.

Ya fue mencionada la interrogante que se plantea acerca de si el efecto en la tasa ovulatoria se debe al contenido proteico de la dieta, al energético, o bien a la interacción de ambos, y en este sentido se realizan una serie de trabajos que comparan diferentes dietas. Cruiskshank et al., (1988), confirmaron la influencia positiva de la proteína sobre la tasa ovulatoria, pero no excluyen la posibilidad que el efecto de este nutriente pueda deberse a su contenido energético.

Acuña et al., (1988), señalan que al suplementar ovejas con cebada o lupino, si bien el consumo diario de suplemento era igual en ambos casos, los animales suplementados con lupino consumían mayores niveles de EM, lo que podría estar explicando junto a su alto contenido proteico el aumento en la tasa ovulatoria obtenido.

A su vez, Azzarini, (1991), plantea que los resultados obtenidos suplementando con grano de lupino podrían deberse a los elevados niveles de EM aportados por el tipo de fermentación ruminal que originan éstos, o a un óptimo balance entre energía y proteína. Mientras los cereales presentan un elevado contenido de almidón, los lupinos tienen mayores niveles de celulosa, hemicelulosa y azúcares. Estas diferencias originarían cambios en el tipo de fermentación ruminal que favorecerían el suministro de EM por parte de los lupinos.

En Uruguay, Acuña et al., (1988), estudiaron el efecto de suplementar ovejas Ideal en torno a la encarnerada con una fuente proteica (farelo: 34,8 % de PC) y una fuente energética (grano de avena: 12,5 Mcal kg<sup>-1</sup> de EM). Los resultados obtenidos evidenciaron una diferencia en la tasa ovulatoria de 17 % entre el grupo suplementado con farelo y el testigo sin suplementar, explicada por el nivel de proteína de este suplemento. En el tratamiento con grano de avena se incrementó la tasa ovulatoria en un 6,8 %, lo que sugiere también un cierto efecto de ésta sobre la tasa ovulatoria, aunque menor que el causado por la proteína.

Azzarini, (1990), encontró respuestas en términos de tasa ovulatoria de ovejas Ideal pastoreando campo natural, las cuales fueron suplementadas con grano (0,4 kg oveja<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>) y farelo (0,5 kg oveja<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>) durante 17 y 30 días. En el cuadro 3 se resumen los resultados obtenidos.

Cuadro 3. Efecto de la suplementación energética y proteica de ovejas Ideal sobre campo natural entorno a la encarnerada sobre la tasa ovulatoria, que se expresa como el número total de cuerpos lúteos/ovejas que ovularon.

Tratamiento	Tasa ovulatoria		
	1986	1987	1988
Testigo	1,16	1,18	1,14
Energía	1,27	1,34	-
Proteína	1,38	1,51	1,26*

\* 17 días de suplementación.

Fuente: tomado de Azzarini, (1990).

En este trabajo también se observó un mayor nivel de respuesta a la suplementación proteica frente a la energética, tendencia que se repitió durante los tres años que duro el experimento.

Azzarini, (1990), también obtuvo resultados similares sobre pasturas sembradas restringiendo el período de flushing a 8 y 19 días con ovejas cuyos ciclos fueron sincronizados. A su vez en la raza Corriedale se obtuvo respuesta a la suplementación proteica, aunque no precisamente en términos de tasa ovulatoria, sino en la “eficiencia” con que son aprovechados los óvulos producidos (cordero nacido por óvulo producido).

Banchero et al., (2003), trabajando con ovejas Corriedale de 46 kg en promedio evaluaron un flushing previo a una encarnerada de otoño con cuatro



tratamientos (campo natural, campo natural + 0,5 kg de maíz, lotus Maku y lotus Maku + 0,5 kg de maíz). Las ovejas que tuvieron acceso al lotus Maku tuvieron una mayor ( $p < 0,05$ ) tasa ovulatoria (1,32) que las que tuvieron acceso a campo natural (1,2). La suplementación con maíz no incidió sobre la tasa ovulatoria, pero permitió obtener un mayor ( $p = 0,10$ ) porcentaje de preñez (90 %) respecto a las no suplementadas (82 %). En el porcentaje de ovejas con corderos mellizos no existieron diferencias significativas. Estos autores indican que la suplementación con maíz permitió incrementar el porcentaje de preñez, debido a que muchas de las ovejas que pastorearon campo natural o lotus Maku no cubrieron sus requerimientos energéticos para ovular un ovocito de calidad para ser fertilizado, o de ser fertilizados hubo pérdidas embrionarias posteriores.

Con el fin de profundizar en los mecanismos que usa la proteína para desencadenar la respuesta reproductiva, y determinar el grado de asociación con los mecanismos que usa la energía para provocar los mismos efectos, Teleni et al., (1989a), realizaron un trabajo en el que suministraron grano de lupino durante 8 días y se estudiaron las concentraciones sanguíneas de algunos metabolitos e insulina. Se observó un incremento significativo en los valores plasmáticos de glucosa, acetato, propionato, urea e insulina.

Teleni et al., (1989b), con el propósito de aclarar aún más el mecanismo que utiliza el lupino para estimular la tasa ovulatoria, estudiaron la asociación entre las tasas de entrada de glucosa obtenidas a partir de distintos suplementos. Encontraron que a pesar de la variación de la calidad del suplemento, la respuesta en la tasa ovulatoria está fuertemente relacionada con la tasa de entrada de glucosa ( $R^2 = 0,94$ ). Estos autores proponen que sin importar el tipo de alimento que se suministre (proteico o energético), lo que se asocia con una mayor o menor tasa ovulatoria es la tasa de entrada de glucosa. La presencia de transportadores de glucosa en células de la teca y granulosa de folículos de ovejas, confirmaría la posibilidad de que la glucosa modulara a nivel del ovario la función folicular (Williams et al., 2001).

Ganong, (1990), asocia la mayor entrada de aminoácidos de cadena ramificada con una mayor liberación de insulina, ya que al menos la leucina provoca este efecto. Además Catalano y Sirhan, (1993), señalan que el ingreso de dichos aminoácidos ramificados así como también de otros aminoácidos en exceso a la tasa de recambio tisular, pueden provocar un aumento en la gluconeogénesis (valina e isoleucina entre los ramificados), y en concordancia con los resultados de Teleni et al., (1989a y b); Williams et al., (2001), incrementar la tasa de entrada de glucosa que podría ser la vía o una de las vías de acción de las dietas flushing.

La habilidad del animal para utilizar los aminoácidos de cadena ramificada en el metabolismo energético sería un importante componente de la respuesta ovulatoria a la nutrición (Downing et al., 1995b). Estos mismos autores señalan que el aumento de dichos aminoácidos está asociado a un incremento en la concentración de insulina.

Downing et al., (1999), indican que la insulina y la glucosa tienen un efecto directo sobre la función ovárica. También sugieren que los efectos de un período corto de suplementación sobre la tasa ovulatoria son mediados por la acción de la insulina y la glucosa. Cuando la insulina induce hipoglicemia se inhibe la secreción de LH en el ciclo estral de la oveja, lo que implica que esta hormona sería mediadora de la función normal del hipotálamo-hipófisis (Downing y Scaramuzzi, 1997).

El aumento en la tasa ovulatoria está relacionado con aumentos en la concentración de leptina, FSH, aminoácidos y glucosa, y descensos en los niveles de estradiol en plasma (Kosior-Korzecka y Bobowiec, 2003).

Las variaciones en la tasa ovulatoria provocadas por una mayor condición corporal o peso vivo, efecto estático, se deberían a descensos en la producción de estrógeno por los folículos, reduciendo el *feedback* negativo y aumentando la FSH, lo que determinaría que el periodo de reclutamiento se extienda obteniendo una mayor tasa ovulatoria. A su vez periodos cortos de suplementación tienen un efecto en la tasa ovulatoria que sería mediado por cambios en las concentraciones de glucosa, insulina y leptina (Viñoles, 2003).

Los efectos de la nutrición energética y/o proteica sobre la tasa ovulatoria son regulados por un complejo sistema en el que intervienen la hormona de crecimiento, hormonas metabólicas, gonadotropicas, y factores de crecimiento. La tasa de entrada de glucosa podría determinar la energía disponible a nivel del ovario, y esta podría ser una de las principales determinantes de la tasa ovulatoria.

## 2.3 LOTUS MAKU: CARACTERISTICAS GENERALES

El *Lotus uliginosus* cv. Grasslands Maku, es ampliamente reconocido como una leguminosa forrajera potencialmente valiosa para regiones templadas y subtropicales (Harris et al., 1997). Según Carámbula, (2001), presenta una muy buena adaptación a las condiciones ecológicas de nuestro país, y muy particularmente a las de la Región Este.

Esta variedad fue desarrollada en Palmerston North, Nueva Zelanda. Es un híbrido tetraploide intraespecífico ( $2n = 4x = 24$ ) (Kaiser et al., 1990), siendo el resultado del cruzamiento de materiales seleccionados en dicho país, con una línea portuguesa de buen crecimiento invernal. Fue liberado en Nueva Zelanda en 1975, e introducido para su evaluación en el país al comienzo de la década del '80, junto a numerosas accesiones internacionales de lotus (Risso, 2001).

### 2.3.1 La planta

Es una leguminosa perenne estival, con un sistema radicular subterráneo compuesto por una raíz principal, estolones y rizomas que le confieren una gran capacidad colonizadora del suelo (Formoso et al., 2001).

Sus tallos aéreos crecen desde los nudos de los rizomas gruesos, y se pueden presentar como erectos o decumbentes dependiendo de la densidad y la altura del tapiz que acompaña a esta especie (Carámbula et al., 1994).

Sus hojas son trifoliadas y sus estípulas muy grandes simulan ser folíolos, por lo que las hojas presentan en apariencia estar compuestas por 5 folíolos obovados y pilosos. Las inflorescencias están compuestas por cuatro a seis flores de color amarillo. En comparación con el *L. corniculatus* posee una menor floración y más concentrada. Su fruto es largo, cilíndrico de aproximadamente 1,8 cm de largo y sus semillas son muy pequeñas (Carámbula et al., 1994).

Los rizomas y estolones son órganos eficientes para el rebrote, la reserva de carbohidratos y el potencial para colonizar. A su vez *L. uliginosus* utiliza gran parte de sus metabolitos y reservas en la formación de nuevos rizomas, característica que lo diferencia de las demás especies del género *Lotus* (Carámbula, 2002).

### 2.3.2 Adaptación e implantación

*L. uliginosus* tiene alto potencial para ser usado en suelos ácidos ( $\text{pH} < 5,2$ ), deficientes en fosfato, y es frecuentemente visto en áreas pantanosas y en bajos húmedos. Tolerancia altos niveles de aluminio y es eficiente en absorber el fosfato del suelo en condiciones de baja disponibilidad de este nutriente (Tabora et al., 1990; Carámbula, 2002).

Carámbula et al., (1994), señalan que se adapta muy especialmente a suelos de drenaje pobre, y si bien es sensible a déficits hídricos también presenta una buena capacidad de recuperación luego de ocurridos los mismos, característica típica de las especies rizomatosas. La presencia de gran cantidad de espacios aéreos en el cortex de las raíces, combinado a su denso y superficial sistema radicular, puede en parte explicar su habilidad para sobrevivir y producir bajo condiciones de exceso de humedad (Sheath, 1980).

Lotus Maku es más eficiente en la utilización del fósforo del suelo que el trébol blanco, pero de todas formas requiere de la fertilización fosfatada aunque sea en bajas dosis para lograr una buena nodulación, implantación y persistencia productiva (Carámbula et al., 1994).

Ayala et al., (2001), destacan que existe una relación muy estrecha entre la fertilización fosfatada inicial y la densidad de siembra en cuanto a la producción de forraje de esta especie en el primer año del mejoramiento. Se ha demostrado que con fertilizaciones de  $40 \text{ kg ha}^{-1}$  de  $\text{P}_2\text{O}_5$  no se observan respuestas importantes al aumento de la densidad de siembra por encima de  $2 \text{ kg ha}^{-1}$  de semilla, mientras que con niveles de  $80 \text{ kg ha}^{-1}$  de  $\text{P}_2\text{O}_5$  se dan respuestas hasta densidades de  $4 \text{ kg ha}^{-1}$ . A partir de estos resultados se puede concluir que con una fertilización inicial de  $40$  a  $80 \text{ kg ha}^{-1}$  de  $\text{P}_2\text{O}_5$  sería posible reducir la densidad de siembra de  $4$  a  $1,5 \text{ kg ha}^{-1}$  de semilla sin reducir la producción de forraje. A su vez se logra aumentar la producción de forraje aumentando la fertilización inicial de  $40$  a  $80 \text{ kg ha}^{-1}$  de  $\text{P}_2\text{O}_5$  e incrementando la densidad de siembra  $0,5$  a  $4 \text{ kg ha}^{-1}$  de semilla.

Al poseer semilla pequeña y ser de lento establecimiento, esta especie según Ayala et al., (2001), tiene una importante respuesta a la disminución de la competencia del tapiz natural al momento de la siembra.

La germinación es lenta, más que en otras leguminosas, por lo tanto las siembras deben realizarse temprano en el otoño (Lancashire et al., 1980). Para lograr un buen establecimiento se debe utilizar altas densidades de siembra para obtener alta densidad de plántulas, y en el año de establecimiento utilizarlo con pastoreos leves y no frecuentes (Arrillaga y Coduri, 1997).

### 2.3.3 Fijación de nitrógeno

La capacidad de fijación de nitrógeno de *L. uliginosus* es similar a la del trébol blanco, excepto en condiciones de baja fertilidad, elevada acidez y/o alta concentración de aluminio donde ésta puede ser mayor (Carámbula et al., 1994).

El rizobio usado como inoculante es tolerante a la acidez del suelo y muy específico, por lo que resulta esencial realizar una correcta inoculación para lograr una buena implantación de esta leguminosa (Carámbula et al., 1994). Pueden existir problemas de implantación atribuibles a una mala nodulación si los antecesores en el potrero fueron *L. corniculatus* o *L. tenuis*, no ocurriendo lo mismo si había en el potrero historia previa de *L. subbiflorus* (Ayala et al., 2001). Castaño y Menéndez, (1998) destacan que la inoculación es esencial debido a que los rizobios efectivos para lotus Maku están ausentes en la mayoría de los suelos.

Se ha observado un incremento en la nodulación, sobrevivencia de plantas durante el invierno y producción de forraje en suelos de pH 4,6 cuando la semilla es peleteada (Wedderburn, 1984). Lowther et al., (1984), no encontraron diferencias en suelos de pH 5,1. Si bien para la región este de nuestro país la mayoría de los suelos no presentan pH menores a 5,0, Ayala et al., (2001), recomiendan por seguridad peletear la semilla con carbonato de calcio o fosforita en polvo, fundamentalmente cuando la siembra se realiza en cobertura.

La fijación biológica de nitrógeno (FBN) consiste en la reducción del N<sub>2</sub> atmosférico a NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, que es asimilado por las plantas en forma de glutamina o glutamato. El glutamato tiene un papel clave en la síntesis de aminoácidos, porque junto con el aspartato y la alanina, que se originan a partir de él, constituyen los tres aminoácidos precursores de la biosíntesis de la mayoría de los otros (Gonnet y Díaz, 2004).

La asparragina es un aminoácido de transporte, y en las leguminosas templadas, a diferencia de otras especies, es el principal encargado del transporte de nitrógeno (Waterhouse et al., 1996). La arginina actúa como reservorio de nitrógeno (Chiang y Dandekar, 1995) dado su alta relación N/C.

### 2.3.4 Producción de forraje

*L. uliginosus* presenta una producción anual de forraje mayor que el *L. corniculatus* (Carámbula et al., 1994), con una importante contribución invernal (Formoso et al., 2001).

Carámbula et al., (1996), en un estudio realizado sobre dos suelos con características diferentes de Sierras (Cerros de Amaro) y Lomadas (Palo a Pique) durante 3 años consecutivos (1992-1994) registraron un comportamiento significativamente superior de lotus Maku, frente a un grupo de *L. corniculatus* y *Trifolium repens* (cuadro 4). En ese trabajo los rendimientos acumulados promedio en el período de 3 años fueron 7.023 y 11.105 kg ha<sup>-1</sup> de materia seca (MS) para suelos de sierras y lomadas respectivamente. Este comportamiento ha sido observado en otras regiones como Basalto y Cristalino.

Cuadro 4. Aporte relativo en porcentaje de diferentes leguminosas en mejoramientos de campo sobre dos suelos contrastantes de la Región Este (total acumulado 1992-1994).

Especies	Sierras	Lomadas
<i>Lotus uliginosus</i> cv. Maku	100a	100 <sup>a</sup>
<i>Lotus corniculatus</i> cv. San Gabriel	-	88b
<i>Lotus corniculatus</i> cv. Ganador	90a	77c
<i>Lotus subbiflorus</i> cv. El Rincón	70b	57d
<i>Trifolium repens</i> cv. Zapicán	6c	22e
<i>Trifolium repens</i> cv. Bayucúa	5c	14f
Rendimiento (kg MS ha <sup>-1</sup> )	7.023	11.105
Coefficiente de Variación (%)	27,8	14,4
Coefficiente determinación (R <sup>2</sup> )	0,96	0,98

NS: (p<0,05).

Fuente: tomado de Carámbula et al., (1996).

Trabajando sobre un suelo profundo de Basalto (Queguay Chico), en los mismos años consecutivos 1992 a 1994, Bemhaja, (1996), registró rendimientos de 11.922 kg MS ha<sup>-1</sup> acumulada.

Risso y Berreta, (1996), en un estudio comparativo entre seis leguminosas sobre un suelo ubicado en Cristalino (Cerro Colorado), determinaron que lotus Maku es capaz de producir 6.000 kg MS ha<sup>-1</sup> en un promedio de 6 años, incluyendo la sequía ocurrida en 1988-1989.

Risso et al., (2001) obtuvo para un promedio de 3 años una producción anual de 8.400 kg MS ha<sup>-1</sup> para una cobertura de lotus Maku bajo pastoreo ovino, con alivios y cierres temporarios.

Formoso et al., (2001), en evaluaciones realizadas en el CIEDAG (Cerro Colorado), en el año 1998, bajo un régimen de pastoreo con 12 ovinos.ha<sup>-1</sup>, registraron una producción total anual promedio de 13.434 kg MS ha<sup>-1</sup>, con un máximo de 15.413 kg y un mínimo de 11.861 kg MS ha<sup>-1</sup>.

En cuanto a la distribución estacional de forraje de *L. uliginosus*, Arrillaga y Coduri, (1997), realizando una evaluación durante 3 años definen un pico máximo en primavera, otro de menor magnitud en otoño y bajas producciones en verano e invierno.

Sin embargo, Carámbula, (2001), señala que las tasas de crecimiento registradas bajo condiciones de pastoreo durante invierno y parte de primavera, han mostrado un importante potencial forrajero del lotus Maku. Para estas condiciones se registraron tasas de crecimiento en invierno de 10-15 kg MS ha<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>, incrementándose a valores entre 30 y 45 kg MS ha<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup> en primavera (Guerrina y Invernizzi, 2002). Soca et al., (2001) encontraron tasas promedio durante el período invernal de 19 kg MS ha<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup> sobre suelos de la Unidad Sierra de Polanco.

Para esta especie en suelos de fertilidad media, se registraron aportes otoño-invernales de 1.680 kg MS ha<sup>-1</sup>, superando la producción de trébol blanco, de 1.200 kg MS ha<sup>-1</sup> (Risso y Berreta, 1996).

Carámbula, (2001), para un trabajo realizado durante 7 años sobre Cristalino, señala una producción otoño-invernal de 1.560 kg MS ha<sup>-1</sup> para *L. uliginosus*, superando en un 21 % a *L. corniculatus* y en un 63 % a *L. subbiflorus*.

Formoso et al., (2001), destacan en un trabajo realizado en el año 1998 en Cerro Colorado (CIEDAG), una producción invernal de 2.199 kg MS ha<sup>-1</sup>, representando un 16 % de la producción total anual.

Castañó y Menéndez, (1998), encontraron en el año de siembra rendimientos superiores a 4.000 kg MS ha<sup>-1</sup>, y más de 6.000 kg MS ha<sup>-1</sup> en el tercer año. En tal sentido, Carámbula, (2001), señala un comportamiento en el cual *L. uliginosus* incrementa sus entregas de forraje a medida que aumenta la edad del mejoramiento.

### 2.3.5 Valor forrajero

En pruebas de preferencia (“cafetería”) realizadas con ovinos y vacunos sobre las variedades del género *Trifolium*, *Lotus* y *Medicago* mostraron a *L. uliginosus* cv. Maku como de los menos apetecidos (Ayala et al., 2001).



Estudios en Nueva Zelanda sobre el valor alimenticio de diferentes especies en base a la ganancia de peso vivo obtenida en ovinos, si bien destacan la superioridad del trébol blanco sobre las demás forrajeras, destacan el comportamiento obtenido con lotus Maku superando a especies como alfalfa y trébol rojo (Ulyatt, 1981).

En el cuadro 5, se aprecia que los niveles de digestibilidad no coinciden con los elevados contenidos proteicos, atribuyéndose a que los métodos tradicionales de evaluación de digestibilidad sólo cuantifican la digestión a nivel ruminal (Ayala et al., 2001).

Locatelli et al., (1997), trabajando en la región del Salado en Argentina, encontraron para primavera valores de 52,5 % de digestibilidad *in vitro*, 18,7 % en proteína cruda, y 43,3 % de fibra detergente neutro.

Cuadro 5. Digestibilidad de la materia orgánica (DMO), proteína cruda (PC) y fibra detergente ácido (FDA) en mejoramientos de campo con diferente proporción de leguminosas en la muestra.

Especies /Variedades	DMO	PC	FDA	% de Leguminosa en la muestra
<i>Trifolium subterraneum</i> cv. Woogenellup	56,1	16,7	31,8	64,7
<i>Trifolium repens</i> cv. Zapicán	65,6	17,3	35,2	85,4
<i>Lotus subbiflorus</i> cv. El Rincón	57,5	20,0	27,2	92,4
<i>Lotus corniculatus</i> cv. Ganador	58,2	13,7	33,5	90,5
<i>Lotus tenuis</i>	59,2	13,3	31,9	37,1
<i>Lotus uliginosus</i> cv. Maku	48,9	22,6	32,2	94,9

Fuente: adaptado de Carámbula et al., (1994).

La digestión a nivel ruminal de *L. uliginosus* y otras especies es menor y adquieren importancia los procesos de digestión y absorción a nivel intestinal, debido a la presencia de taninos condensados (Ayala et al., 2001). Por este motivo puede no resultar conveniente la comparación de la información sobre la digestibilidad con otras especies.

La presencia de taninos condensados protege las proteínas solubles durante la digestión ruminal e inhibe la producción de espuma estable que causa el meteorismo (Carámbula et al., 1994).



Se observó un efecto de los taninos condensados, aumentando la tasa ovulatoria, como consecuencia de un aumento del flujo abomasal de aminoácidos esenciales. Como consecuencia de esto se produce un aumento en el porcentaje de ovejas melliceras y por ende de corderos nacidos por oveja (Barry y Mc Nabb, 1999).

Carámbula et al., (1994), señalan que en trabajos realizados en Nueva Zelanda se ha encontrado en *L. uliginosus* niveles de taninos entre 5,80 % y 9,76 %, los que serían superiores a los encontrados en *L. corniculatus*, situados entre 0,13 % y 3,9 %.

Montossi, (1996), destaca que en general para las condiciones de Nueva Zelanda las concentraciones de taninos condensados en *L. uliginosus* aumentan cuando la planta crece bajo condiciones de estrés (baja fertilidad, suelos ácidos y bajas temperaturas) llegando a valores de 8 a 10 % (cuadro 6). Sin embargo en condiciones favorables las concentraciones son de 2 a 4%.

Cuadro 6. Valores en la concentración de taninos condensados (en g kg<sup>-1</sup> de MS) de especies del género *Lotus* en estado vegetativo según el nivel de fertilidad del suelo.

Autores	Fertilidad del suelo	<i>Lotus uliginosus</i>	<i>Lotus corniculatus</i>	
			cv. Empiere	cv. Maitland
John & Lancashire (1981)	ALTA	20,0	2,5	14,5
Lowhter et al., (1987)	BAJA	94,5	2,8	28,1
Barry & Forss (1983)	ALTA	32,0		
	BAJA	78,0		
Barry & Duncan (1984)	ALTA	45,6		
	BAJA	105,9		
McNabb et al., (1993)	ALTA	24,2		

Nota: ALTA: pH > 5,3; Olsen > 18 um.ml<sup>-1</sup>; SO4-S > 12 um.g<sup>-1</sup>  
 BAJA: pH < 5,2; Olsen > 8 um.ml<sup>-1</sup>; SO4-S > 5 um.g<sup>-1</sup>

Fuente: Adaptado de Montossi (1996).

Anuraga et al., (1997), encontraron resultados similares, señalando que en suelos con bajos contenidos de fósforo y azufre se incrementan los niveles de taninos (8-11 %), pudiendo ser corregido esto al fertilizar. Ayala et al., (2001), registra un rango de concentración de taninos totales que varía entre

41-53 g kg<sup>-1</sup> de MS para mejoramientos fertilizados anualmente con 80 unidades de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> hasta 88-94 g kg<sup>-1</sup> cuando lotus Maku crecía sin recibir aplicación de fosfato.

### 2.3.6 Producción de semilla

Lotus Maku es la leguminosa más difícil de manejar para lograr rendimientos altos y consistentes de semilla. En Nueva Zelanda, donde las condiciones climáticas para la producción de semillas son bastante más favorables que las de nuestro país, en un período comprendido entre 1990-1997 se registraron rendimientos promedio de 135, con máximos de 230 y mínimos de 0 kg ha<sup>-1</sup> (Formoso, 2001).

Las variaciones en la producción de semilla se deben principalmente a las condiciones climáticas, obteniéndose producciones bajas o nulas en periodos extremadamente húmedos o secos durante floración-semillazón (Formoso, 2001).

Lowther et al., (1992), destacan que la producción de semilla de esta especie es menor a la de otros lotus, y al evaluar el potencial de resiembra natural observaron que la capacidad de producir semilla viable varía también según el régimen de defoliación.

Para nuestro país se han registrado producciones de semilla bajas a nulas asociadas a excesos de precipitaciones o sequías intensas en las etapas claves, sin embargo también se han obtenido rendimientos de 100 a 130 kg ha<sup>-1</sup> de semilla (Formoso, 2001).

### 3.MATERIALES Y METODOS

#### 3.1 LOCALIZACION Y PERIODO EXPERIMENTAL

El trabajo se realizó en el establecimiento “El Higuieron” propiedad del Ing.Agr. Jorge Telechea situado en la Ruta nacional N°15 km 77,5, (34°10” latitud sur, 54°28” longitud oeste), en la Localidad Velázquez, perteneciente al Departamento de Rocha.

El período experimental estuvo comprendido entre el 6 de abril y el 20 de julio del 2004.

#### 3.2 SUELOS Y PASTURAS

El área experimental utilizada para la sobrealimentación previa a la encarnerada fue un mejoramiento de campo natural con *L. uliginosus* cv. Grassland Maku sobre suelos de la Unidad Sierras de Polanco.

La leguminosa fue sembrada al voleo en julio de 1998, a una densidad de 2,5 kg de semilla ha<sup>-1</sup> y fertilizada con 100 kg ha<sup>-1</sup> del binario 12-52-0.

Las refertilizaciones se realizaron todos los años con el mismo fertilizante a 60 kg ha<sup>-1</sup>.

El mejoramiento fue pastoreado con categorías en crecimiento de ovinos y bovinos, adecuándose las dotaciones y el tiempo de pastoreo para permitir la cosecha de semilla.

#### 3.3 ANIMALES EXPERIMENTALES

Se utilizaron 80 ovejas adultas de la raza Corriedale con fecha de nacimiento similar, un peso vivo promedio  $47,7 \pm 1,1$  kg y  $2,9 \pm 0,2$  de condición corporal según la escala de Jefferies, (1961). Además se identificaron los animales con antecedentes melliceros, siendo un total de doce.

Las ovejas pertenecen a una majada encarnerada en otoño, destetadas el 15 de enero del 2004. Se encontraban en correcto estado sanitario, recibiendo dosificaciones para parásitos gastrointestinales en febrero con Rafoxanida, en abril Fenbendazol y en julio Levamisol.

### 3.3.1 Tratamiento

El 6/IV/04 se seleccionaron 80 ovejas por fecha de nacimiento, peso vivo y condición corporal. Las ovejas fueron pesadas en grupos de cinco, en una balanza mecánica con precisión al gramo.

Se trabajó con cuatro lotes iguales de 20 ovejas, asignando a cada lote tres ovejas con antecedente mellicero.

El 7/IV/04 cada lote fue asignado a un potrero diferente teniendo los animales acceso a aguadas naturales de forma permanente. El área de los potreros fue calculada según la ecuación de Paladine y Lascano, (1983).

$$A = \frac{PVT \times AF \times Nd}{Disp \times 100}$$

donde: A= área del potrero  
PVT= peso vivo total en el potrero  
AF= asignación de forraje definida como  $\frac{\text{kg MS utilizable}}{100 \text{ kg PV}}$   
Nd= número de días del pastoreo  
Disp= disponibilidad de materia seca (MS) utilizable

Se trabajó con asignaciones de 2, 4, 6 y 8 % de forraje. Se tomó arbitrariamente una utilización del 75 % (cuadro 7).

Cuadro 7. Area de los potreros y dotación según asignación de forraje.

Asignación	Area (ha)	Dotación (ovejas ha <sup>-1</sup> )
2 %	1,2	16
4 %	2,6	8
6 %	4,5	4
8 %	5,9	3

El flushing se realizó desde el 7 al 27 de abril (20 días). El 27/IV/04 se realizó a los cuatro lotes condición corporal y diagnóstico de la actividad ovárica mediante la técnica de endoscopia (Thimonier y Mauleón, 1969), utilizando un laparoscopio Storz de 5 mm y 30°. Se determinó tasa ovulatoria (TO= número de óvulos producidos/ovejas que ovularon), nivel ovulatorio (NO= número de óvulos producidos/ovejas totales), porcentaje de ovejas con ovulaciones múltiples (OOM= número de ovejas que producen más de un óvulo/ovejas que ovularon) y se registraron aquellos folículos estimulados que no alcanzaron la

ovulación. De este modo se definió el grado de estimulación folicular (GE) como la sumatoria de cuerpos lúteos, de folículos preovulatorios y de folículos total o parcialmente luteinizados. La eficiencia ovulatoria (EO) se definió como el cociente entre NO y el GE.

La encarnerada se realizó sobre campo natural, desde el 28 de abril al 4 de junio (38 días). Se utilizaron carneros de la raza Corriedale a razón del 3%. Luego de la encarnerada los animales permanecieron en campo natural.

El 20/VII/04 se diagnosticó preñez (ovejas preñadas/ovejas encarneradas), carga fetal (únicos o mellizos) y tamaño fetal (chico y grande), para determinar el momento de la concepción durante el período de encarnerada, utilizando un Ecógrafo Aloka SS550, de sonda vectorial de 3,5 Mhz. Se calculó el porcentaje de mellizas (ovejas preñadas con mellizos/ovejas preñadas) y fecundidad (número total de corderos detectados en ecografía/ovejas encarneradas).

### 3.4 MEDICIONES EN LA PASTURA

Se realizaron tres mediciones (6/IV/04, 20/IV/04 y 27/IV/04) de la disponibilidad de materia seca realizando cortes en un cuadro de 0,2 m x 0,5 m con tijera de esquila al ras del suelo.

Las muestras de disponibilidad fueron secadas en estufa con aire forzado a 60°C durante 48 horas, obteniéndose la materia seca disponible, para estimar posteriormente el porcentaje de materia seca y la relación materia seca/materia verde (MS/MV).

Conjuntamente con las mediciones de disponibilidad de MS, en cada potrero se recolectaron tres muestras, cada una de doce folíolos de distintas partes de la planta y de plantas diferentes. Estas muestras fueron colectadas e inmediatamente almacenadas en un termo con nitrógeno líquido, para posteriormente ser conservadas a -80°C hasta el momento de ser analizadas.

Los registros climáticos desde el inicio del flushing hasta el final de la encarnerada se presentan en el cuadro 8.

Cuadro 8. Registros pluviométricos del periodo 6/IV/04-6/VI/04 expresados en mm.

Fecha	Lluvia	Fecha	Lluvia	Fecha	Lluvia	Fecha	Lluvia
6/IV/04	40	22/IV/04	46	8/V/04	0	22/V/04	0
7/IV/04	0	23/IV/04	0	9/V/04	0	23/V/04	0
8/IV/04	0	24/IV/04	0	10/V/04	0	24/V/04	40
9/IV/04	0	25/IV/04	0	11/V/04	0	25/V/04	0
10/IV/04	0	26/IV/04	0	12/V/04	0	26/V/04	55
11/IV/04	0	27/IV/04	0	13/V/04	36	27/V/04	0
12/IV/04	0	28/IV/04	0	14/V/04	0	28/V/04	0
13/IV/04	0	29/IV/04	36	15/V/04	0	29/V/04	0
14/IV/04	0	30/IV/04	0	16/V/04	0	30/V/04	0
15/IV/04	65	1/V/04	0	17/V/04	0	31/V/04	0
16/IV/04	15	2/V/04	0	16/V/04	0	1/VI/04	0
17/IV/04	0	3/V/04	0	17/V/04	0	2/VI/04	0
18/IV/04	0	4/V/04	0	18/V/04	0	3/VI/04	0
19/IV/04	0	5/V/04	0	19/V/04	0	4/VI/04	0
20/IV/04	0	6/V/04	17	20/V/04	0	5/VI/04	0
21/IV/04	0	7/V/04	0	21/V/04	0	6/VI/04	0

### 3.5 ANALISIS DE LABORATORIO

El análisis de valor nutritivo a las muestras de disponibilidad se realizó en el Laboratorio de nutrición del Centro de Investigación y Experimentación “Dr. Alejandro Gallina” (CIEDAG) perteneciente al Secretariado Uruguayo de la Lana (SUL) y el análisis de aminoácidos a los folíolos en el Laboratorio de Bioquímica de Facultad de Agronomía.

#### 3.5.1 Análisis de valor nutritivo

Las muestras fueron molidas con una malla de 1 mm para determinar el contenido nitrógeno mediante el método micro-Kjeldahl, multiplicando por 6,25 para transformarlo en proteína cruda (PC) (AOAC, 1984).

Mediante el método de Tilley y Terry (1963), se determinó la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (DMOIV).

Se calculó la energía metabolizable (EM) según la ecuación de Geenty y Rattray, (1987).

$$EM \text{ (MJ kg}^{-1} \text{ de MS)} = [(0,92 \times \% \text{ DMOIV} - 1,2) \times 0,039] \times 4,1$$

### 3.5.2 Extracción de aminoácidos libres

Los aminoácidos libres se extrajeron según Izaguirre-Mayoral et al, (1992) macerado 0,2 g de folíolos en 0,5 mL de tampón fosfato potásico 10 mM pH 7,2/ etanol 96° (1:1). El macerado se centrifugó a 5000 *g* x 5 min a temperatura ambiente y el sobrenadante se usó para la cuantificación de los aminoácidos y para la derivatización de los mismos, a efectos de ser analizados por cromatógrafo líquido de alta performance (HPLC) .

#### 3.5.2.1 Identificación y cuantificación de aminoácidos por HPLC

Los aminoácidos se identificaron y cuantificaron previa derivatización con o-ftaldidehído (OPA) de acuerdo a Hunkapiller et al., (1984) con modificaciones. 13µL de extracto se le adicionaron 27µL de tampón borato-NaOH 0,4 M – 2-mercaptoetanol 0,69M, OPA 86µM en metanol-agua (1-1). Las muestras se agitaron durante 4 min a 2.500 rpm y posteriormente se centrifugó a 12.000 x *g* durante 2 min. Las muestras de 40µL se inyectaron en un HPLC provisto de un cargador automático para 20µL. La elusión y separación de los aminoácidos se realizó empleando una columna C18 como fase estacionaria y como fase móvil se utilizaron dos solventes. El primero fue tampón acetato 20mM, pH 5,5 (solvente A) y el segundo fue metanol (solvente B). Las condiciones de elusión en gradiente fueron a un flujo de 1,0 mL min<sup>-1</sup> y 25°C de temperatura se presentan en el cuadro 9.

Cuadro 9. Condiciones de elusión de las muestras OPA-aminoácidos.

Tiempo (min)	%A	%B
0	80	20
45	20	80
46	80	20
65	80	20

Los aminoácidos-OPA separados en la columna se detectaron por su absorbancia a 337nm con un detector de arreglo de diodos. Los picos de los diferentes aminoácidos-OPA se identificaron por comparación con los tiempos

de elusión de cada aminoácido-OPA inyectado solo y posteriormente en mezclas de identidad conocida. Las concentraciones de los aminoácidos-OPA de las muestras se determinaron a partir de mezclas de aminoácidos-OPA de concentraciones conocidas (entre 2 y 30 nmoles) que se inyectaron por duplicado, determinándose para cada aminoácido-OPA una curva de calibración cuyas variables y parámetros se presentan en el cuadro 10.

Cuadro 10. Curva de calibración, tiempo de retención y relación de flujo (Rf) para cada aminoácido y para los compuestos nitrogenados glutation (gsh),  $\gamma$ -amino butirato (gaba).

Aminoácido	Ecuación	r <sup>2</sup>	Tiempo de retención (min)	Rf
gsh	y= 153.662x + 6.435	0,874	3,47	0,015
asp	y= 111.748x + 4.851	0,958	6,70	0,081
glu	y= 174.985x + 4.477	0,920	10,70	0,196
asn	y= 148.031x + 8.483	0,964	11,70	0,220
ser	y= 141.689x + 7.546	0,995	13,84	0,274
gln	y= 235.357x + 3.402	0,977	15,25	0,308
arg	y= 218.144x + 13.024	0,959	18,48	0,390
gly	y= 134.138x + 9.439	0,959	19,12	0,406
ala	y= 154.088x + 10.715	0,980	24,12	0,532
gaba	y= 245.985x + 2.780	0,953	25,12	0,557
met	y= 192.677x + 7.009	0,763	32,25	0,734
phe	y= 163.217x + 20.947	0,635	33,97	0,777
orn	y= 285.704x + 3.904	0,971	41,15	0,956
lys	y= 295.862x + 10.815	0,983	42,90	1,000

Nota: asp (aspartato), glu (glutamato), asn (asparragina), ser (serina), gln (glutamina), arg (arginina), gly (glicina), ala (alanina), met (metionina), phe (fenilalanina), orn (ornitina), lys (lisina).

### 3.6 ANALISIS ESTADISTICO

Se trabajó con distintos procedimientos provistos por el paquete estadístico SAS versión 8,0 (SAS, Institute Inc., 1999).

El peso vivo al inicio y efecto del nivel de alimentación previo a la encarnerada sobre el comportamiento reproductivo de las ovejas se estudió mediante análisis de varianza para un modelo lineal y diseño completamente al azar utilizando el procedimiento GLM.



El efecto de los tratamientos sobre la condición corporal final se estudió con el procedimiento GLM, mediante un modelo lineal utilizando como covariable la condición corporal al inicio del experimento.

La concentración de aminoácidos libres se estudió en un diseño de parcelas divididas en el tiempo utilizando el procedimiento MIXED.

## 4.RESULTADOS Y DISCUSION

### 4.1 CARACTERIZACION DE LA OFERTA FORRAJERA DURANTE EL PERIODO DE SOBREALIMENTACION PREVIO A LA ENCARNERADA

La pastura al inicio del flushing presento una disponibilidad de 353 kg de MS ha<sup>-1</sup> (cuadro 11). Esta baja disponibilidad se debió principalmente a las condiciones de déficit hídrico ocurridas durante verano e inicios de otoño.

Cuadro 11. Cantidad de forraje disponible expresado en kg MS y MV ha<sup>-1</sup> y relación MS/MV durante el flushing.

Asignación	06/IV/2004*				20/IV/2004				27/IV/2004		
	n	MV	MS	MSMV (%)	n	MV	MS	MSMV (%)	MV	MS	MSMV (%)
2 %					20	816	333(±199)	40,83	1.636	461(±193)	28,19
4 %					20	1.464	612(±215)	41,78	2.240	653(±287)	29,13
6 %					20	2.114	680(±174)	32,14	3.303	838(±229)	25,37
8 %					20	1.994	682(±363)	34,20	3.525	876(±268)	24,85
Promedio	20	818	353(±183)	43,15	80	1.597	577(±284)	37,24	2.676	707(±294)	26,89

\*En esta fecha se realizó un muestreo para la totalidad del área.

Nota: (±) indica desvío estándar .

En promedio al final del flushing la MS disponible incrementó un 100 % con respecto al inicio, mientras que la relación MS/MV disminuyó un 38 %. Esta tendencia se observó en las cuatro asignaciones, pero fue más notoria en 6 y 8 %.

El incremento en la disponibilidad de forraje y en la proporción de MV, se puede atribuir principalmente a las precipitaciones ocurridas entre el 6/IV/04 y el 27/IV/04 que totalizaron 166 mm (cuadro 8).

Cuadro 12. Evolución de la asignación de forraje durante el flushing.

	Fecha de muestreo			Promedio
	6/IV/04	20/IV/2004	27/IV/2004	
2%		2%	2%	2%
4%		6%	7%	5%
6%		12%	15%	11%
8%		16%	20%	15%

La asignación 2 % de forraje se mantuvo durante el flushing. Las restantes asignaciones de forraje incrementaron durante el mismo período,

debido a que la tasa de crecimiento de la pastura fue mayor al consumo por parte de los animales (cuadro 12).

Cuadro 13. Calidad de forraje disponible durante el flushing.

Asignación	n	06/IV/2004*		20/IV/2004		27/IV/2004			
		DMOIV (%)	PC (%)	n	DMOIV (%)	PC (%)	N	DMOIV (%)	PC (%)
2%				18	45,8	15,67	18	51,6	18,96
4%				18	49,2	15,42	18	54,2	20,08
6%				18	52,7	17,40	18	54,2	20,96
8%				18	49,5	16,57	18	50,7	18,85
Promedio	20	53,7	14,63	72	49,3	16,26	72	52,7	19,71

\*En esta fecha se realizó un muestreo para la totalidad del área.

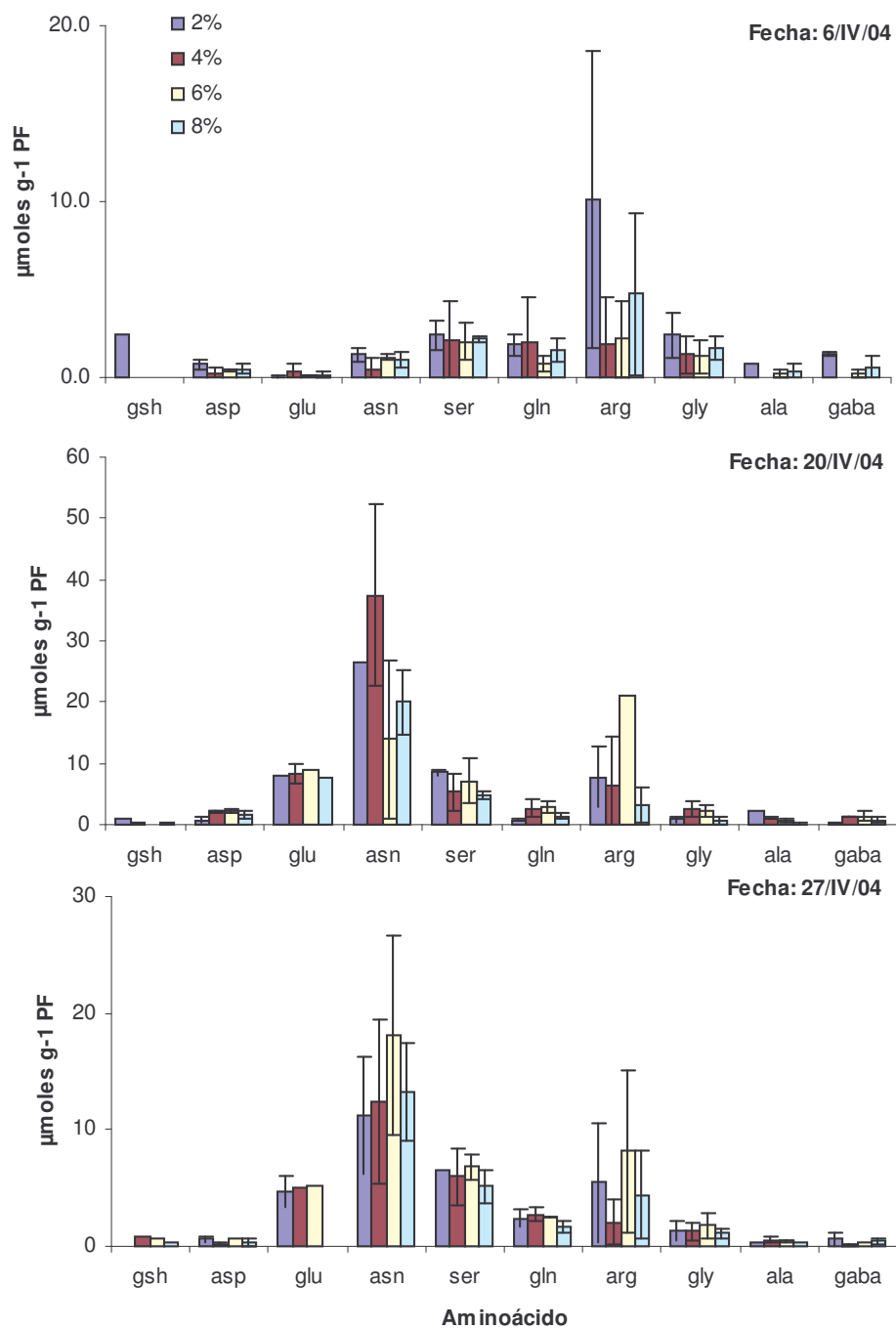
El porcentaje de PC promedio para las tres fechas de muestreo fue 17 % (cuadro 13). Este valor es inferior a los encontrados por Carámbula et al., (1994) y por Bancharo et al., (2003) de 22,6 y 20 % de PC respectivamente. Entre asignaciones de forraje no se apreciaron diferencias importantes en el porcentaje de PC.

En las cuatro asignaciones de forraje hubo un incremento en el porcentaje de PC hacia el final del flushing. Este comportamiento podría estar asociado al aumento en la proporción de MV en el forraje disponible.

Los valores promedio de DMOIV obtenidos se ubicaron entorno al 50 %, valor coincidente con los encontrados por Carámbula et al., (1994) y Locatelli et al., (1997) situados en 48,9 % y 52,5 % respectivamente.

La identificación y cuantificación de aminoácidos por fecha de muestreo se resume en la figura 4.

No existieron diferencias significativas en la concentración de aminoácidos libres por asignación entre las fechas de muestreo. La concentración total de aminoácidos libres detectados fue significativamente mayor en la fecha 20/IV/04 con respecto a las fechas 6/IV/04 y 27/IV/04, y no se encontró diferencias significativas entre estas dos últimas. La mayor concentración de aminoácidos libres detectados en la segunda fecha de muestreo puede ser atribuida al aumento en la concentración del aminoácido asparragina.



NS: ( $p < 0,05$ ). Líneas (|) corresponden al desvío estándar.

Figura 4. Concentración de aminoácidos por fecha de muestreo según asignación de forraje.

La asparragina esta relacionada con la traslocación de nitrógeno en la planta, lo que puede sugerir que este aumento en su concentración puede estar asociado a las precipitaciones que ocurrieron previo a esta fecha (cuadro 8), después de un período prolongado de déficit hídrico durante verano y otoño, que provocaron un mayor transporte de nutrientes en la planta.

En un estudio en el que se evaluó la composición aminoacídica de distintas especies del género *Lotus* la asparragina fue el aminoácido más abundante y representaba entre el 20-30 % de la concentración total de aminoácidos. En ese mismo estudio se encontró que la arginina era más abundante en *Lotus uliginosus* que en las otras especies de lotus estudiadas (Pedro Diaz, com. pers.). En nuestro estudio la concentración promedio de arginina fue de 6  $\mu\text{moles g}^{-1}$  PF.

Los aminoácidos metionina, fenilalanina, ornitina y lisina individualmente no superaron una concentración de 0,2  $\mu\text{moles g}^{-1}$  PF y los aminoácidos valina, leucina e isoleucina no fueron detectados por el HPLC.

#### 4.2 EFECTO DEL PASTOREO PREVIO A LA ENCARNERADA SOBRE EL ESTADO NUTRICIONAL DE LAS OVEJAS

Cuadro 14. Efecto del pastoreo previo a la encarnerada sobre la condición corporal de las ovejas.

Fecha de muestreo		06/IV/2004		27/IV/2004	Variación de CC (27/04-06/04)
Asignación	n	PV(Kg)	CC	CC	*
2 %	20	47,60 a	2,96 a	2,85 c	-0,11 c
4 %	20	47,65 a	2,84 b	2,95 b	+0,11 b
6 %	20	48,05 a	2,86 b	3,09 a	+0,23 a
8 %	20	47,60 a	2,90 ab	3,16 a	+0,26 a

NS: letras iguales no difieren significativamente ( $p>0,05$ ).

\* La variación de CC fue significativa ( $p<0,05$ ) en las cuatro asignaciones.

El peso vivo de los animales al inicio del experimento no presentó diferencias significativas entre las distintas asignaciones, pero en las cuatro superó los 47 kg (cuadro 14). La condición corporal al inicio fue superior en la asignación 2 %, y al final fue superior en las asignaciones 6 y 8 %, intermedia en 4 % e inferior en 2 %. Durante el flushing las ovejas que pastorearon en la asignación de 2 % perdieron condición corporal, mientras que en los restantes tratamientos los animales ganaron condición. Esta ganancia fue mayor en las ovejas que pastorearon en las asignaciones 6 y 8 % de forraje.

Las diferencias encontradas en condición corporal desde el punto de vista biológico serían de poca importancia, ya que al inicio como al final del flushing los valores se situaron entorno a tres, condición corporal considerada adecuada para realizar la encarnerada.

Considerando el peso vivo inicial y las variaciones en la condición corporal durante el flushing, se puede estimar que al inicio de la encarnerada el peso vivo promedio en todas las asignaciones superó el crítico definido por Coop, (1966), de 40 kg para la raza Corriedale.

Cuadro 15. Requerimientos de materia seca, proteína cruda y energía metabolizable (NRC, 1985), y oferta según asignación de forraje.

Asignación	Requerimientos <sup>1</sup>			Ofrecido		
	MS (Kg)	PC (g)	EM (MJ) <sup>2</sup>	MS (Kg)	PC (g)	EM (MJ) <sup>2</sup>
2 %	1,6	150	14,2	0,9	145	6,5
4 %	1,6	150	14,2	2,6	444	19,0
6 %	1,6	150	14,2	5,2	930	40,2
8 %	1,6	150	14,2	7,1	1189	53,2

<sup>1</sup> Requerimientos de flushing 3 semanas previas a la encarnerada.

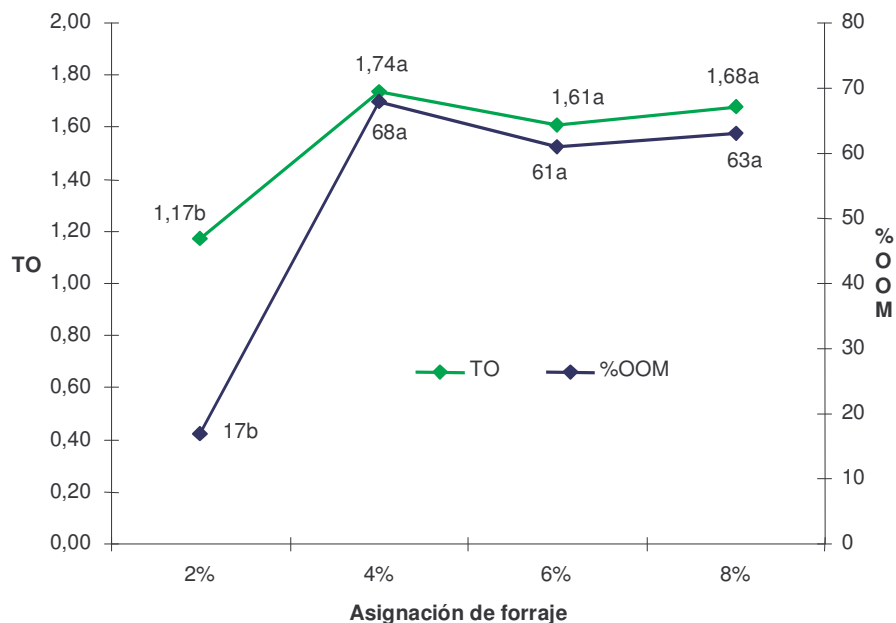
<sup>2</sup> EM calculada en base digestibilidad de la pastura.

En las asignaciones 4, 6 y 8 % de forraje los animales cubrieron los requerimientos, y en 2 % fue limitante la oferta de MS, PC y EM. Los requerimientos para un flushing incrementan en el entorno de 60 % con respecto a los requerimientos de mantenimiento.

Si consideramos solo los requerimientos para mantenimiento las ovejas que pastorearon a 2 % de asignación tendrían únicamente déficit en la oferta de EM. Este déficit en la oferta podría explicar la pérdida de condición corporal de las ovejas que pastorearon en esta asignación.

#### 4.3 EFECTO DEL PASTOREO PREVIO A LA ENCARNERADA SOBRE EL DESEMPEÑO REPRODUCTIVO DE LAS OVEJAS

En las asignaciones de 4, 6 y 8 % se registró una mayor tasa ovulatoria y porcentaje de ovejas con ovulaciones múltiples con respecto a 2 %. Entre las tres asignaciones superiores no existieron diferencias significativas (figura 5).



NS: letras iguales no difieren significativamente ( $p > 0,05$ ).  
 Nota: tasa ovulatoria (TO), ovejas con ovulaciones múltiples (OOM).

Figura 5. Tasa ovulatoria y porcentaje de ovejas con ovulaciones múltiples según asignación de forraje.

La mayor tasa ovulatoria y porcentaje de ovejas con ovulaciones múltiples se obtuvieron en las asignaciones de forraje que permitieron a los animales ganar condición corporal durante el flushing. Este efecto de la nutrición en el período previo a la encarnerada sobre el comportamiento reproductivo fue definido por Gunn, (1983) como de corto plazo.

Dentro de los efectos de corto plazo sobre la tasa ovulatoria se podría esperar, un efecto estático para las cuatro asignaciones debido a que superaron el peso crítico al inicio de la encarnerada, coincidiendo con lo señalado por Fernández Abella, (1993), y un efecto dinámico similar al definido por Azzarini, (1985); Orcasberro, (1985); Fernández Abella, (1993), para las tres asignaciones superiores, dado que ganaron condición corporal durante las tres semanas previas a la encarnerada.

Las ovejas que pastorearon a una asignación de 2 % al inicio de la encarnerada superaron el peso crítico, pero la pérdida de condición corporal

durante el flushing, aunque desde el punto de vista biológico fue de escasa magnitud, estaría explicando la menor tasa ovulatoria con respecto a las restantes asignaciones. Esto coincide con lo que señalan Rattray et al., (1980), donde una oveja más pesada que mantiene o pierde peso previo a la encarnerada puede tener una tasa ovulatoria similar o menor que una oveja más liviana que gana peso, resaltando la importancia de que las ovejas lleguen a la encarnerada ganando peso. Esto determina que los efectos de corto plazo de la nutrición que estarían determinando una diferencia en la tasa ovulatoria son los efectos dinámicos, es decir que más allá del peso vivo alcanzado al inicio de la encarnerada, lo que implicaría una mayor tasa ovulatoria y porcentaje de ovejas con ovulaciones múltiples sería la ganancia de condición corporal durante el flushing.

La asignación de 2 % fue la única donde las ovejas durante el flushing no cubrieron los requerimientos (cuadro 15), lo que determina que pierdan condición corporal. Lassoued et al., (2004), al comparar dos planos nutritivos, uno donde se cubrían los requerimientos de mantenimiento y otro donde se superaban dichos requerimientos, obtuvieron una mayor tasa ovulatoria en el plano alto con respecto al bajo. Catalano y Sirhan, (1993) señalan que al superar los requerimientos de mantenimiento para EM durante los últimos 12 días del ciclo estral se incrementa el porcentaje de ovejas con ovulaciones múltiples.

En el flushing incrementar la asignación de forraje de 2 a 4 % permitió a las ovejas cubrir sus requerimientos y ganar condición corporal, aumentando la tasa ovulatoria y el porcentaje de ovejas con ovulaciones múltiples. Asignar más forraje no mejora estos indicadores y lleva a una menor eficiencia en el uso de la pastura al disminuir la dotación.

El nivel ovulatorio, grado de estimulación folicular y la eficiencia ovulatoria no presentaron diferencias significativas entre los cuatro tratamientos (cuadro 16). Se observó una tendencia a aumentar el grado de estimulación folicular por encima de 2 % de asignación de forraje, debido a que las asignaciones 4, 6, y 8 % aportarían una mayor cantidad de proteína (cuadro 15), lo que permitiría aumentar el grado de estimulación folicular, es decir el número de folículos reclutados. Esto concuerda con lo señalado por Knight et al., (1981) de que mayores niveles proteicos en la dieta permiten aumentar el número de folículos reclutados. Catalano y Sirhan, (1993) indican que aumenta el porcentaje de ovulaciones múltiples en ovejas consumiendo niveles superiores a 125 g de proteína digestible por día.



Cuadro 16. Efecto de la asignación de forraje sobre nivel ovulatorio, grado de estimulación folicular y eficiencia ovulatoria.

	Asignación de Forraje			
	2%	4%	6%	8%
Nivel Ovulatorio	1,11 a	1,65 a	1,45 a	1,60 a
Grado de estimulación	1,42 a	2,00 a	1,65 a	2,00 a
Eficiencia ovulatoria	0,78 a	0,83 a	0,88 a	0,80 a

NS: letras iguales no difieren significativamente ( $p>0,05$ ).

En la figura 6 se observa que en la asignación 2 %, el 68 % de las ovejas no supera el grado de estimulación uno, mientras que en las restantes asignaciones, en promedio, el 67 % de las ovejas tuvo un grado de estimulación de dos o mayor. Esto implica que en la asignación 2 % solo el 32 % de las ovejas recluta más de un folículo, a diferencia de las restantes asignaciones donde en promedio el 67 % de las ovejas reclutan dos folículos o más.

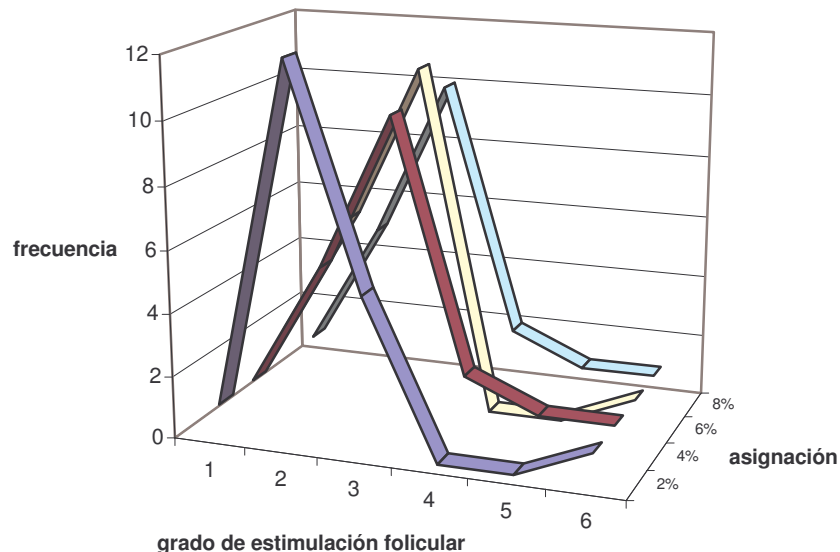


Figura 6. Representación de la frecuencia del grado de estimulación folicular según asignación de forraje.

Los aumentos en el reclutamiento logrados por los niveles de proteína que aportaron las asignaciones de 4, 6 y 8 % permitirían lograr una mayor tasa ovulatoria.

El aporte de proteína sobrepasante a la degradación ruminal, que determina una mayor absorción de aminoácidos esenciales en el intestino, es otro factor que puede explicar el aumento en la tasa ovulatoria. La concentración sanguínea de los aminoácidos esenciales valina, leucina e isoleucina tendría una fuerte relación con la tasa ovulatoria, según señalan Waghorn y Smith, (1990); Catalano y Sirhan, (1993). En el análisis de aminoácidos, la valina, leucina e isoleucina no fueron detectados en folíolos de lotus Maku en ninguno de los tiempos ensayados. Esto sugiere que probablemente la cantidad de aminoácidos en la planta no sería la que determinaría una mayor absorción de los mismos, sino la baja degradación ruminal de la proteína debida al contenido de taninos condensados que presenta el lotus Maku. Esto coincide con lo señalado por varios autores (Carámbula et al., 1994; Montossi, 1996; Walton et al., 2001) de que esta especie presenta un elevado contenido de taninos condensados. A su vez Barry y McNabb, (1999) señalan que los taninos condensados aumentan el flujo abomasal de aminoácidos esenciales y permiten obtener aumentos en la tasa ovulatoria.

El incremento obtenido en la tasa ovulatoria al realizar un flushing con lotus Maku previo a la encarnerada, coincide con resultados obtenidos por varios autores que indican que un periodo de sobrealimentación con pasturas y/o suplementos previo a la encarnerada permite aumentar la tasa ovulatoria (Coop, 1966; Rattray et al., 1980; Pearse et al., 1994; Jauhiainen y Sormunen-Cristian, 2002; Godfrey et al., 2003).

Cuadro 17. Efecto de la asignación de forraje (2 % vs. >2 %) sobre el porcentaje de preñez, mellizas y fecundidad.

	Asignación de Forraje	
	2%	> 2%
Preñez (%)	100 a	88 a
Mellizas (%)	21 a	28 a
Fecundidad (%)	121 a	112 a

NS: letras iguales no difieren significativamente ( $p > 0,05$ ).

La fecundidad esta dada por la combinación de preñez, que indica fertilidad, con prolificidad, representada en este caso por las mellizas. Considerando los resultados obtenidos para tasa ovulatoria, se esperaría una menor performance reproductiva en los animales que pastorearon en la asignación 2 % de forraje, por lo que se comparo porcentaje de preñez, mellizas y fecundidad de las ovejas que pastorearon a una asignación de 2 %, frente a

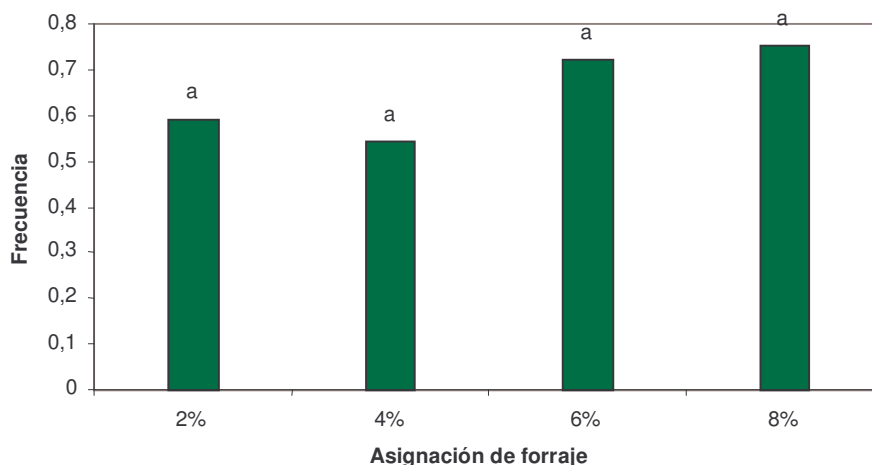
todas las que pastorearon por encima de esta asignación (cuadro 17), y no hubo diferencias significativas para ninguno de estos indicadores.

Un lote de ovejas pertenecientes a la misma majada de los animales experimentales se manejaron únicamente sobre campo natural a una asignación de forraje mayor a 3 % (Jorge Telechea, com. pers). Estos animales presentaron el 6/IV/04 una condición corporal promedio de 2,8. El manejo sanitario y las condiciones de encarnerada no difirieron de las que recibieron los animales experimentales.

Los animales manejados únicamente sobre campo natural obtuvieron un 92 % de preñez, 9 % de mellizas y 100 % de fecundidad. La principal diferencia que se aprecia con respecto a los animales que recibieron el flushing es el porcentaje de mellizas, que fue sensiblemente menor. En nuestro trabajo el porcentaje de mellizas representa la prolificidad, y en este sentido Scaramuzzi, (1988) señala que la prolificidad es determinada por la tasa ovulatoria, siendo este un factor que puede ser influenciado por la nutrición. Si consideramos la calidad de un campo natural sobre Cristalino para la misma época en la que se realizó el flushing, Formoso et al., (2001) encontraron valores promedio de 60 % de DMOIV y 8,6 % de PC. Esto puede indicar que la menor calidad del campo natural, principalmente dada por el porcentaje de PC, pudo haber determinado un menor reclutamiento, una menor tasa ovulatoria y afectar el porcentaje de mellizas en los animales que no tuvieron acceso a lotus Maku previo a la encarnerada. Este supuesto coincide con Banchemo et al., (2003), quienes al realizar un flushing obtuvieron una mayor tasa ovulatoria en ovejas que tuvieron acceso a lotus Maku, con respecto a un control que se le ofreció solo campo natural.

El flushing permitió obtener una mayor tasa ovulatoria en las asignaciones por encima de 2 %, pero este comportamiento no se vio reflejado en los porcentajes de preñez, mellizas y fecundidad. Factores relacionados al diseño del experimento y/o a las condiciones que se dieron durante la encarnerada, en especial el forraje utilizado, podrían estar influyendo sobre estos resultados.

El tamaño fetal chico se analizó para determinar el momento de concepción de los animales, y no presentó diferencias significativas entre asignaciones (figura 7). En las asignaciones de 6 y 8 % más del 70 % de los fetos fueron de tamaño chico. Esto implicaría que en estos tratamientos las ovejas fueron preñadas más tarde en el período de encarnerada con respecto a los tratamientos 2 y 4 % de asignación de forraje.



NS: letras iguales no difieren significativamente ( $p > 0,05$ ).

Figura 7. Frecuencia de tamaño fetal chico según asignación de forraje.

El período de encarnerada tuvo una duración de 38 días y se realizó sobre campo natural. Las ovejas continuaron ciclando durante la encarnerada, pero el reclutamiento y tasa ovulatoria en estos ciclos probablemente haya sido menor al obtenido con el flushing, debido fundamentalmente a la menor calidad del forraje de campo natural. Esta hipótesis coincide con los resultados obtenidos por Banchemo et al., (2003) quienes al realizar un flushing durante 20 días con ovejas previamente sincronizadas, incluyendo la encarnerada en los últimos 7 días, obtuvieron al retirar los carneros una mayor tasa ovulatoria (1,32) en las ovejas que tuvieron solo acceso a lotus Maku con respecto a las que pastorearon solo campo natural (1,2). Además estos autores atribuyen la menor tasa ovulatoria obtenida a la menor calidad del campo natural.

El período crítico para lograr aumentos en la tasa ovulatoria sería 6 días previos a la ovulación (Luque et al., 2000), al incluir los días 10 a 14 del ciclo estral donde ocurren la mayoría de los factores que afectan la tasa ovulatoria (Lindsay, 1976). Esto coincide con los resultados obtenidos en este trabajo, dado que el flushing tuvo una duración de 20 días, incluyendo los días 10 a 14 del ciclo estral, y permitió lograr aumentos en la tasa ovulatoria. También permite explicar que al realizarse la encarnerada sobre campo natural, en los ciclos que se dieron durante este período la menor calidad del forraje ofrecido determinó que los factores que afectan la tasa ovulatoria, y se dan entre el día 10 y 14 del ciclo, hayan redundado en un menor reclutamiento y tasa ovulatoria afectando los porcentajes de preñez, mellizas y fecundidad.

La realización de un flushing previo a la encarnerada permite incrementar la tasa ovulatoria al aumentar el reclutamiento. En condiciones de baja disponibilidad de forraje, el ajuste de la dotación en función de la asignación de forraje parece una buena alternativa para obtener un buen desempeño reproductivo de los animales, utilizando de forma eficiente la pastura. La asignación de 4 % de forraje fue la que se ajusto mejor a estas condiciones.

El hecho de que la mayor tasa ovulatoria obtenida no se refleje en un mayor porcentaje de fecundidad, se debería fundamentalmente a la oferta de forraje utilizada durante la encarnerada. La menor calidad del campo natural, principalmente por los menores niveles de PC, determinaría una menor tasa ovulatoria al afectar el reclutamiento. Mantener el mejoramiento forrajero utilizado en el flushing durante la encarnerada permitiría capitalizar la mayor tasa ovulatoria obtenida en un mayor porcentaje de fecundidad. La importancia de la calidad del forraje se puede observar en los animales que realizaron el flushing, donde la PC tendría un efecto residual que permitió en las cuatro asignaciones superar el 20 % de mellizas y obtener una fecundidad promedio 115 % , a pesar de la menor calidad de la oferta de forraje durante la encarnerada.

Se requieren mas estudios donde se utilice un mayor número de animales para determinar la asignación de forraje que mejor se ajuste para un flushing que permita aumentar la tasa ovulatoria utilizando de forma eficiente la pastura. También se debe buscar un manejo de la encarnerada que permita capitalizar los aumentos obtenidos en la tasa ovulatoria durante el flushing en un mayor porcentaje de fecundidad. La relación entre aminoácidos ramificados y tasa ovulatoria se podría evaluar con mayor precisión al medir la concentración en sangre de dichos aminoácidos (Waghorn y Smith, 1990).

## 5.CONCLUSIONES

Las distintas asignaciones de forraje utilizadas durante el flushing afectaron significativamente ( $p < 0,05$ ) la condición corporal de las ovejas al inicio de la encarnerada. Las ovejas que pastorearon en las asignaciones 4, 6 y 8 % de forraje ganaron condición corporal durante el flushing.

La tasa ovulatoria y el porcentaje de ovejas con ovulaciones múltiples fueron afectadas significativamente ( $p < 0,05$ ) por las asignaciones de forraje utilizadas en el flushing. La respuesta se observó al aumentar de 2 a 4 % la asignación de forraje, y entre 4, 6 y 8 % no hubo diferencias significativas ( $p > 0,05$ ).

El grado de estimulación folicular no presentó diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre las distintas asignaciones de forraje utilizadas durante el flushing, aunque se observó una tendencia a aumentar el reclutamiento por encima de 2 %. Esta tendencia se atribuiría a los mayores niveles de proteína que aportan las asignaciones superiores.

El porcentaje de preñez, mellizas y fecundidad no presentaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) al comparar los animales que pastorearon en 2 % de asignación de forraje frente a todos los que pastorearon por encima de esta asignación. El porcentaje de mellizas en las cuatro asignaciones supera el 20 % y la fecundidad promedio para las cuatro asignaciones fue 115 %, lo que se podría atribuir a un efecto residual de la proteína aportada por el lotus Maku ofrecido previo a la encarnerada. La falta de concordancia entre el comportamiento de tasa ovulatoria y fecundidad se debería fundamentalmente a la menor calidad del forraje ofrecido durante la encarnerada.

En el mejoramiento de lotus Maku, a pesar de presentar una baja disponibilidad de forraje ( $353 \text{ kg de MS ha}^{-1}$ ), se pudo realizar un flushing al ajustar la dotación en función de la asignación de forraje. Esto permite aportar los niveles de proteína requeridos por los animales para aumentar el reclutamiento y determinar una mayor tasa ovulatoria. Se deben buscar condiciones durante la encarnerada que permitan que este efecto se traduzca en una mayor fecundidad.

La concentración de aminoácidos libres detectados fue significativamente ( $p < 0,05$ ) superior en la fecha 20/IV/04 respecto a las fechas 6/IV/04 y 27/IV/04, debido principalmente al incremento del aminoácido asparragina. En folíolos de lotus Maku los aminoácidos valina, leucina e isoleucina no fueron detectados por el HPLC.

## 6.RESUMEN

En un establecimiento en la Localidad de Velázquez, departamento de Rocha (34°10" latitud sur, 54°28" longitud oeste) se estudió el efecto de cuatro asignaciones de forraje (AF) en un mejoramiento de *Lotus uliginosus* (cv. Maku) durante 20 días previos a la encarnerada sobre el desempeño reproductivo de 80 ovejas Corriedale. El 6/IV/04 se seleccionaron 80 ovejas adultas de la raza Corriedale con fecha de nacimiento similar, peso vivo (PV) promedio  $47,7 \pm 1,1$  kg y  $2,9 \pm 0,2$  de condición corporal (CC). Se trabajó con 4 lotes iguales de 20 ovejas cada uno que el 7/IV/04 fueron asignados a 4 potreros diferentes donde permanecieron hasta el inicio de la encarnerada que se realizó sobre campo natural desde el 28/IV/04 al 4/VI/04. Se determinó previamente el área de los potreros en 1,2, 2,6, 4,5 y 5,9 hectáreas de forma tal de trabajar con AF de 2, 4, 6 y 8 % respectivamente. La disponibilidad y calidad promedio de la pastura fue el 6/IV/04 (353 kg de MS ha<sup>-1</sup>, PC: 14,63 %, DMOIV: 53,7 %), 20/IV/04 (577 kg de MS ha<sup>-1</sup>, PC: 16,26 %, DMOIV: 49,3 %) y 27/IV/04 (707 kg de MS ha<sup>-1</sup>, PC: 19,71 %, DMOIV: 52,7 %). El efecto de los tratamientos sobre el PV y las variables reproductivas se estudió en un diseño completamente al azar mediante modelos lineales. Para la CC final se utilizó como covariable la CC al inicio del experimento. La concentración de aminoácidos (AA) libres en planta se analizó mediante un diseño de parcelas divididas en el tiempo. Los AA valina, leucina e isoleucina no se detectaron en folíolos de lotus Maku. La concentración de AA libres detectados fue superior ( $p < 0,05$ ) el 20/IV/04 respecto al 6/IV/04 y 27/IV/04. El 6/IV/04 se determinó PV y CC por AF siendo para 2 %: 47,6 kg, 2,96; 4 %: 47,65 kg, 2,84; 6 %: 48,05 kg, 2,86; y 8 %: 47,6 kg, 2,9 respectivamente, PV no fue diferente ( $p > 0,05$ ) entre AF, mientras CC fue superior ( $p < 0,05$ ) para AF 2 %. La AF durante el flushing afectó ( $p < 0,05$ ) la evolución de la CC y la CC al 27/IV/04, siendo para 2%: -0,11, 2,85; 4 %: +0,11, 2,95; 6 %: +0,23, 3,09 y 8 %: +0,26, 3,16 respectivamente. La tasa ovulatoria determinada por laparoscopia el 27/IV/04 fue afectada ( $p < 0,05$ ) por la AF al igual que el porcentaje de ovejas con ovulaciones múltiples ( $p < 0,05$ ). Nivel ovulatorio, grado de estimulación folicular y eficiencia ovulatoria no presentaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre los tratamientos. La AF no afectó ( $p > 0,05$ ) los porcentajes de preñez, mellizas y fecundidad. En un flushing con lotus Maku durante 20 días previos a la encarnerada con una AF de 4 % se puede aumentar la tasa ovulatoria y el porcentaje de ovejas con ovulaciones múltiples.

Palabras clave: ovinos, flushing, tasa ovulatoria, fecundidad.



## 7.SUMMARY

The effect of four forage assignments (FA) in a cultivation of *Lotus uliginous* (cv. Maku) over 80 Corriedale ewes during 20 days previous to the mating, was studied in an establishment at Velázquez, a locality of Rocha Department (34°10" south latitude, 54°28" west longitude). Eighty Corriedale adult ewes with similar date of birth, liveweight (LV) average 47,7±1,1 kg and body condition (BC) 2,9±0,2 were choiced on 6/IV/04. Previously the pasture grounds area was determined in 1,2, 2,6, 4,5 and 5,9 hectares in order to work with AF of 2, 4, 6 and 8 % respectively. The grass availability and quality average was on 6/IV/04 (353 kg DM ha<sup>-1</sup> CP: 14,63 % MOIVD: 49,3 %) and on 27/IV/04 (7707 kg DM ha<sup>-1</sup>, CP: 19,71 %, DMOIV: 52,7 %). The treatment effects on the LV and the reproductive variabilities were studied in a by chance chosen design by means of lineal models. To the final BC, was used as covariable, the BC they had at the beginning of the experiment. The aminoacid concentration (AA) free in plant was analysed by means of a design of parcels divided in time. The valine, leucine and isoleucine AA were not detected in lotus Maku folioles. The concentration of free AA detected was higher (p<0,05) on 20/IV/04. On 6/IV/04 LW and BC were determined by AF, to 2 % it was: 47,6 kg, 2,96; 4 %: 47,65 kg, 2,84; 6 %: 48,05 kg, 2,86; and 8 %: 47,6 kg, 2,9 respectively, LW was not different (p>0,05) between AF, while BC was higher (p>0,05) to AF 2%. The AF during flushing affected (p<0,05) the evolution of BC and the BC to 27/IV/04, to 2%: -0,11, 2,85; 4%: +0,11, 2,95; 6%: +0,26, 3,16 respectively. The ovulation rate determined by laparoscopy on 27/IV/04 was affected (p<0,05) by AF the same that the average of ewes with multiple ovulations (p<0,05). The level of ovulation, the level of stimulation follicular and the ovulatory efficiency did not present important differences (p>0,05) between the treatments. The AF did not affect averages of pregnancy, twins and fecundity. In a flushing with lotus Maku during 20 days previous to mating with a AF of 4%, it is possible to increase the ovulation rate and the average of ewes with multiple ovulations.

Keywords: sheep, flushing, ovulation rate, fecundity.



## 8.BIBLIOGRAFIA

1. ACUÑA, J.; ANTONACCIO, A.; OSORIO, G. 1988. Efecto de la suplementación sobre el comportamiento productivo y reproductivo de ovejas Ideal manejadas sobre campo natural. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay, Facultad de Agronomía. 261 p.
2. ADAMS, N.R.; BRIEGEL, J.R.; SANDERS, M.R.; BLACKBERRY, M.A.; MARTIN, G.B. 1997. Level of nutrition modulates the dynamics of oestradiol feedback on plasma FSH in ovariectomized ewes. *Animal Reproduction Science* 47: 59-70.
3. ANURAGA, M.; DUARSA, P.; HILL, M.J.; LOVETT, J.V. 1993. Soil Moisture and Temperature Affect Condensed Tannin Concentrations and Growth in *Lotus corniculatus* and *Lotus pedunculatus*. *Australian Journal of Agricultural Research* 44: 1667-1681.
4. ARRILLAGA, I.; CODURI, G. 1997. Manejo de defoliación de *Lotus pedunculatus* cv. Maku. . Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay, Facultad de Agronomía. 70p.
5. ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. 1984. Official methods of analysis, 14<sup>th</sup> ed. Washington D.C.
6. AYALA, W.; BERMUDEZ, R.; CARAMBULA, M. 2001. Manejo de implantación de lotus Maku. In: Lotus Maku: Manejo, utilización y producción de semillas. La Estanzuela-Treinta y Tres, INIA. Serie Técnica No. 119. pp. 3-8.
7. AZZARINI, M. 1985. Vías no genéticas para modificar la prolificidad ovina. In: Seminario Técnico de Producción Ovina (2º, 1985, Salto, Uruguay). Montevideo, SUL. pp. 111-130.
8. \_\_\_\_\_. 1990. Contribución del control reproductivo a los sistemas de producción ovina. In: Seminario Técnico de Producción Ovina (3º, 1990, Salto, Uruguay). Montevideo, SUL. pp. 111-127.
9. \_\_\_\_\_. 1991. El efecto de los lupinos sobre la reproducción de los ovinos. In: Selección de temas Agropecuarios. N°6. pp. 29-50.

10. \_\_\_\_\_. 1992. Reproducción en ovinos en América Latina. Algunos resultados de la investigación sobre factores determinantes del desempeño reproductivo y su empleo en condiciones de pastoreo. *Producción Ovina* 5: 7-56.
11. BAIRD, D.T. 1983. Factors regulating the growth of the preovulatory follicle in the sheep and human. *Journal of Reproduction and Fertility* 69: 343-352.
12. BANCHERO, G.; QUINTANS, G.; VAZQUEZ, A.I. 2002. Alternativas de manejo para aumentar la tasa ovulatoria en ovejas Corriedale. In: *Producción Animal Unidad Experimental Palo a Pique. Actividades de Difusión No. 294 INIA Treinta y Tres. Uruguay. pp. 32-36.*
13. \_\_\_\_\_.; MILTON, J.; LINDSAY, D.; LA MANNA, A.; VAZQUEZ, A.I.; QUINTANS, G. 2003. Como aumentar la tasa ovulatoria/mellicera en ovejas Corriedale. In: *Jornada Anual de Producción Animal. Resultados Experimentales. Unidad Experimental Palo a Pique. INIA Treinta y Tres. Uruguay Octubre 2003. pp 52-56.*
14. BARRY, T.N.; McNABB, W.C. 1999. The implications of condensed tannins on the nutritive value of teperate forages fed to ruminants. *British Journal of Nutrition* 81: 263-272.
15. BARTLEWSKY, P.M.; BEARD, A.P.; COOK, S.J.; CHANDOLIA, R.K.; HONARAMOOZ, A.; RAWLINGS, N.C. 1999. Ovarian antral follicular dynamics and their relationships with endocrine variables throughout the oestrus cycle in breeds of sheep differing in prolificacy. *Journal of Reproduction and Fertility* 115: 111-124.
16. BEMHAJA, M. 1996. Producción de pasturas en Basalto. In: *Producción y Manejo de Pasturas. INIA Tacuarembó. Serie Técnica No. 80. pp. 231-240.*
17. BIANCHI, G. 1995. Encarneradas de Primavera: posibilidades y restricciones. *Cangué N° 4: 9-14.*
18. BINDON, B.M.; BLANC, M.R.; PELLETIER, J.; TERQUI, M.; THIMONIER, J. 1979. Perioovulatory gonadotrophin and ovarian steroid patterns in sheep of breeds with differing fecundity. *Journal of Reproduction and Fertility* 55: 15-25.

19. BLACHE, D.; MILLER, D.W.; MILTON, J.T.B.; MARTIN, G.B. 1996. The secretion of gonadotrophins, insulin, and insulin-like growth factor 1 by Merino rams supplemented with differnet legume seeds. *Australian Journal of Agricultural Research* 47: 843-852.
20. \_\_\_\_\_; CHAGAS, L.M.; BLACKBERRY, M.A.; VERCOE, P.E.; MARTIN, G.B. 2000. Metabolic factors affecting the reproductive axis in male sheep. *Journal of Reproduction and Fertility* 120: 1-11.
21. CACERES, R.; CESAR, R.; JONES, G. 1997. Efecto de la alimentación en la encarnerada sobre la performance reproductiva de ovejas Merino australiano, con diferentes niveles de alimentación en el post destete. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay, Facultad de Agronomía. 45 p.
22. CAHILL, L.P. 1981. Folliculogenesis in the sheep as influenced by breed, season and oestrous cycle. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* 30: 135-142.
23. CAMPBELL, B.K.; SCARAMUZZI, R.J.; EVANS, G.; DOWNING, J.A. 1991. Increased ovulation rate in androstenedione-immune ewes is not due to elevated plasma concentrations of FSH. *Journal of Reproduction and Fertility* 91: 655-666.
24. \_\_\_\_\_. 1999. The modulation of Gonadotropic Hormone Action on the Ovary by Paracrine and Autocrine Factors. *Anatomia, Histologia, Embriologia* 28(4): 247-251.
25. \_\_\_\_\_; DOBSON, H.; BAIRD, D.T.; SCARAMUZZI, R.J. 1999. Examination of the relative role of FSH and LH in the mechanism of ovulatory follicle selection in sheep. *Journal of Reproduction and Fertility* 117: 355-367.
26. CARAMBULA, M.; AYALA, W.; CARRIQUIRY, E. 1994. *Lotus pedunculatus*: Adelantos sobre una forrajera que promete. INIA Treinta y Tres. Serie Técnica No. 45. 13 p.
27. \_\_\_\_\_; AYALA, W.; BERMUDEZ, R. 1996. Características relevantes de lotus Maku. In: Producción Animal. Unidad Experimental Palo a Pique. INIA Treinta y Tres. Actividades de Difusión No. 110. pp. 7-16.
28. \_\_\_\_\_. 2001. Manejo de lotus Maku para producción de forraje. In: Lotus Maku: Manejo, utilización y producción de semillas. La Estanzuela-Treinta y Tres, INIA. Serie Técnica No. 119. pp. 9-21.

29. \_\_\_\_\_. 2002. Pasturas y Forrajes. Potenciales y alternativas para producir forraje. Montevideo: Editorial Agropecuaria Hemisferio. V. 1, 357 p.
30. CASTAÑO, J.P.; MENENDEZ, F.G. 1998. Caracterización vegetativa y producción de semillas de Lotus. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay, Facultad de Agronomía. 67p.
31. CATALANO, R.; SIRHAN, L. 1993. "Flushing" en ovinos: importancia de la proteína y la energía como determinantes de una mayor prolificidad. Avances en Producción Animal 18 (1-2): 21-30.
32. COOP, I. E. 1966. Effect of flushing on reproductive performance of ewes. Journal of Agricultural Science, Cambridge 67: 305-323.
33. CROKER, K.P.; JHONS, M.A.; JHONSON, T.J. 1985. Reproductive performance of Merino ewes supplemented with sweet lupin seed in Southern Western Australia. Australian Journal of Experimental Agriculture 25: 21-26.
34. \_\_\_\_\_.; JHONS, M.A.; BELL, S.H.; BROWN, J.A.; WALLACE, J.F. 1990. The influence of vaccination with Fecundin and supplementation with lupin grain on the reproductive performance of Merino ewes in Western Australia. Australian Journal of Experimental Agriculture 30: 469-476.
35. CRUISKSHANK, G.J.; SMITH, J.F.; FRASER, D.J. 1988. The influence of abomasal infusion of protein or energy on ovulation rate in ewes. Proceedings of the New Zeland Society of Animal production 48: 77-80.
36. CHIANG, H.H.; DANDEKAR, A.M. 1995. Regulation of proline accumulation in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh during development and in response to desiccation. Plant, Cell and Environment 18: 1280-1290.
37. DAVIS, I.F.; BRIEN, F.D.; FINDLAY, J.K.; CUMMING, I.A. 1981. Interactions between dietary protein, ovulation rate and follicle stimulating level in the ewe. Animal Reproduction Science 4: 19-28.
38. DOWNING, J.A.; SCARAMUZZI, R.J.; JOSS, J. 1990. Infusion of branched chain aminoacids will increase ovulation rate in the ewe. Proceeding of the Australian Society of Animal Production 18: p.472.

39. \_\_\_\_\_; SCARAMUZZI, R.J. 1991. Nutrient effects on ovulation rate, ovarian function and the secretion of gonadotrophic and metabolic hormones in sheep. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* 43: 209-227.
40. \_\_\_\_\_; JOSS, J.; CONNELL, P.; SCARAMUZZI, R.J. 1995a. Ovulation rate and the concentrations of gonadotrophic and metabolic hormones in ewes fed lupin grain. *Journal of Reproduction and Fertility* 103:137-145.
41. \_\_\_\_\_; JOSS, J.; SCARAMUZZI, R.J. 1995b. A mixture of the branched chain amino acids leucine, isoleucine and valine increases ovulation rate in ewes when infused during the late luteal phase of the oestrus cycle: an effect that may be mediated by insulin. *Journal of Endocrinology* 145(2): 315-323.
42. \_\_\_\_\_; SCARAMUZZI, R.J. 1997. The effect of the infusion of insulin during the luteal phase of the estrous cycle on the ovulation rate and on plasma concentrations of LH, FSH and glucose in ewes. *Theriogenology* 47(3): 747-759.
43. \_\_\_\_\_; JOSS, J.; SCARAMUZZI, R.J. 1999. The effect of a direct arterial infusion of insulin and glucose on the ovarian secretion rates of androstendione and oestradiol in ewes with an autotransplanted ovary. *Journal of Endocrinology* 163(3): 531-541.
44. DRIANCOURT, M.A. 2001. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology* 55: 1211-1239.
45. DUNN, T.; MOSS, E. 1992. Effects of nutrient deficiencies and excesses on reproductive efficiency of livestock. *Journal of Animal Science* 70: 1580-1593.
46. EVANS, A.C.O.; DUFFY, P.; HYNES, N.; BOLAND, M.P. 2000. Waves of follicle development during the estrous cycle in the sheep. *Theriogenology* 53: 699-715.
47. FARADORI, C.D.; COOLEN, L.M.; FITZGERALD, M.E.; SKINNER, D.C.; GOODMAN, R.L.; LEHMAN, M.N. 2002. Colocalization of Progesterone Receptors in Parvicellular Dynorpin Neurons of the Ovine Preoptic Area and Hypothalamus. *Endocrinology* 143: 4366-4274.

48. FERNANDEZ ABELLA, D. 1993. Principios de la fisiología reproductiva ovina. Montevideo. Hemisferio Sur. 247 p.
49. \_\_\_\_\_. 1995. Control biotecnológico de la reproducción en la oveja. In: Temas de Reproducción Ovina e Inseminación Artificial en Bovinos y Ovinos. Montevideo: División de Publicaciones y Ediciones de la Universidad de la República. pp. 63-92.
50. FINDLAY, J.K; CUMMING, I.A. 1976. FSH in ewes: effects of season liveweight and plane of nutrition on plasma FSH and ovulation rate. *Biology of Reproduction* 15: 335-342.
51. FLETCHER, I.C. 1981. Effect of energy and protein intake on ovulation rate associated with the feeding of lupin grain to Merino ewes. *Australian Journal of Agricultural Research*. 32: 79-87.
52. FORMOSO, F.A. 2001. Producción de semillas de lotus Maku. In: Lotus Maku: Manejo, utilización y producción de semillas. La Estanzuela-Treinta y Tres, INIA. Serie Técnica No. 119. pp. 39-67.
53. FORMOSO, D.; OFICIALDEGUI, R.; NORBIS, R. 2001. Producción y valor nutritivo del campo natural y mejoramientos extensivos. In: Utilización y manejo de mejoramientos extensivos con ovinos. SUL. pp. 7-24.
54. FRANDSON, R.D.; SPURGEON, T.L. 1992. Anatomía y Fisiología de los Animales Domésticos. México: McGraw-Hill. 560 p.
55. GANONG, W. 1990. Fisiología médica. México: El Manual Moderno. p. 714.
56. GANZABAL, A.; RUGGIA, A.; DE MIQUELERENA, J. 2003. Producción de corderos en sistemas intensivos. In: Actividades de Difusión No. 342 INIA La Estanzuela. Uruguay. pp. 1-7.
57. GEENTY, K.J.; RATTRAY, P.V. 1987. The energy requirements of grazing sheep and cattle. *New England Zealand Society of Animal Production*. Edited by A.M. Nicol. Occasional Publication No. 10: 39-53.
58. GODFREY, R.W.; WEIS, A.J.; DODSON, R.E. 2003. Effect of Flushing Hair Sheep Ewes During the Dry and Wet Seasons in the U.S. Virgin Islands. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 2(3): 184-190.

59. GONNET, S.; DIAZ, P. 2004. Biosíntesis de aminoácidos y otros metabolitos nitrogenados. In: El Metabolismo del Nitrógeno en las plantas., pp 95-119. Márquez, A. y Monza, J. Ed., Almuzara.
60. GUERRINA, A.M.; INVERNIZZI, A. 2002. Efecto de la carga animal en la recría de corderas sobre un mejoramiento de campo con *Lotus pedunculatus* cv. Maku. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay, Facultad de Agronomía. 108p.
61. GUNN, R.G. 1983. The influence of nutrition on reproduction in the ewe. In: Sheep Production., pp. 99-110. Haresign, W. Ed., Butterworths London.
62. \_\_\_\_\_; MAXWELL, T.J.; SIM, D.A.; JONES, J.R.; JAMES, M.E. 1991. The effect of level of nutrition prior to mating on the reproductive performance of ewes of two Welsh breeds in different levels of body condition. *Animal Production* 52: 157-163.
63. HAFEZ, E.S.E. 1993. Reproducción e Inseminación Artificial en animales. México: McGraw-Hill. 542 p.
64. HARESIGN, W. 1981. The influence of nutrition on reproduction in the ewe. II. Effect of undernutrition on pituitary responsiveness to luteinizing releasing hormone stimulation. *Animal Production* 32: 257-260.
65. \_\_\_\_\_; McLEOD, B.J.; WEBSTER, G.M. 1983. Endocrine control of reproduction in the ewe. In: Sheep Production., pp. 358-379. Haresign, W. Ed., Butterworths London.
66. HARRIS, C.A.; BLUMENTHAL, M.J.; KELMAN, W.M.; McDONALD, L. 1997. Effect of cutting height and cutting interval on rhizome development, herbage production and herbage quality of *Lotus pedunculatus* cv. Grassland Maku. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 37: 631-637.
67. HSUEH, A.J.; ADASHI, E.Y.; JONES, P.B.; WELSH, T.H. 1984. Hormonal regulation of the differentiation of cultured ovarian granulosa cells. *Endocrinology Review* 5: 76-127.
68. HUME, I.D. 1974. The production of dietary protein escaping degradation in the rumen of sheep feed on various protein concentrates. *Australian Journal of Agricultural Research*. 25: 155-165.



69. HUNKAPILLER, M.; STRICKLER, J.; WILSON, K. 1984. Contemporary methodology for protein structure determination. *Science* 226: 304-311.
70. IZAGUIRRE-MAYORAL, M.; CARBALLO, O.; FLORES, S.; SICARDI DE MALLORCA, M.; OROPEZA, T. 1992. Quantitative analysis of the symbiotic N<sub>2</sub>-fixation, non-structural carbohydrates and chlorophyll content in sixteen native legume species collected in different Savanna sites. *Symbiosis* 12: 293-312.
71. JAUHAINEN, L.; SORMUNEN-CRISTIAN, R. 2002. Effect of nutritional flushing on the productivity of Finnish Landrace ewes. *Small Ruminant Research* 43: 75-83.
72. JEFFERIES, B.C. 1961. Body condition scoring and its use in management. *Tasmanian Journal of Agriculture* 32: 19-21.
73. JOSEPH, I.B.J.K.; RAVINDRA, J.P.; RAWLINGS, N.C. 1995. Oestradiol and the preovulatory surges of luteinizing hormone and follicle stimulating hormone in ewes during the breeding season and transition into anoestrus. *Animal Reproduction Science* 40: 291-298.
74. KADOKAWA, H.; BRIEGEL, J.R.; BLACKBERRY, M.A.; BLACHE, D.; MARTIN, G.B.; ADAMS, N.R. 2003. Reproduction and plasma concentrations of leptin, insulin and insulin-like growth factor 1 in growth-hormone-transgenic female sheep before and after artificial insemination. *Reproduction, Fertility and Development* 15: 47-53.
75. KAISER, C.J.; HEATH, M.E. 1990. Big Trefoil: A new legume for pastures on fragipan soils. pp. 191-194. In: J. Janick and J.E. Simon (eds), *Advances in New Crops*. Timber Portland Press, OR.
76. KELLY, R.W.; JOHNSTONE, P.D. 1982. Reproductive performance of commercial sheep flock in South Island districts. II. Relationship between ovulation rate, liveweight at mating and lambing performance. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 25: 519-523.
77. KNIGHT, T.W.; OLDHAM, C.M.; LINDSAY, D.R. 1975. Studies in ovine infertility in agricultural regions in Western Australia: The influence of a supplement of lupins (*Lupinus angustifolius* cv. Uniwhite) at joining on the reproductive performance of ewes. *Australian Journal of Agricultural Research* 26: 567-575.



78. \_\_\_\_\_; PAYNE, E.; PETERSON, A.J. 1981. Effect of diet and live-weight on FSH and oestradiol concentration in Romney ewes. Proceedings of the Australian Society for Reproductive Biology 13:19-26.
79. KOSIOR-KORZECKA, U.; BOBOWIEC, R. 2003. Changes in the Level of endogenous lepin, FSH, 17beta-oestradiol and metabolites during lupin-induced increase in ovulation rate in ewes. Journal of Veterinary Medicine 50(7): 343-349.
80. LAHLOU-CASSI, A.; MARIANA, J.C. 1984. Ovarian follicular growth during the oestrus cycle in two breeds of ewes of diferent ovulation rate, the D'Man and the Timahdite. Journal of Reproduction Fertility 72: 301-310.
81. LANCASHIERE, J.A.; GOMEZ, J.S.; McKELLER, A. 1980. "Grasslands Maku" Lotus seed production. In: Lancashiere, J.A., de Herbage seed production. Palmerston North, New Zeland. Grasslands Association pp. 80-86.
82. LASSOUED, N.; REKIK, M.; MAHOUACHI, M.; HAMOUDA, M.B. 2004. The effect of nutrition prior to and during mating on ovulation rate, reproductive wastage, and lambing rate in three sheep breeds. Small Ruminat Research 52(1/2) 117-125.
83. LEYVA, V.; BUCKRELL, B.S.; WALTON, J.S. 1998a. Regulation of follicular activity and ovulation in ewes by exogenous progestagen. Theriogenology 50: 395-416.
84. \_\_\_\_\_; BUCKRELL, B.S.; WALTON, J.S. 1998b. Follicular activity and ovulation regulated by exogenous progestagen and PMSG in anestrous ewes. Theriogenology 50: 377-393.
85. LINDSAY, D.R.; KNIGHT, T.W.; OLDHAM, C.M. 1975. Studies in ovine fertility in agricultural regions of Western Australia: ovulation rate, fertility and lambing performance. Australian Journal of Agricultural Research 26: 189-198.
86. \_\_\_\_\_. 1976. The usefulness to the animal producer of research findings in nutrition on reproduction. Proceeding of the Australian Society of Animal Production 11:217-224.
87. LOCATELLI, M.L.; REMIS, J.L.; IGLESIAS, A.A. 1997. Evaluation of forage cuality attributes for Lotus spp. grown in the Salado River Basin. In: Lotus Newsletter V. 28.

88. LOWTHER, W.L.; LITTLEJOHN, R.P. 1984. Effect of strain of rhizobia, inoculation level, and pelleting on the establishment of oversown *Lotus pedunculatus* "Grassland Maku". New Zeland Journal of Experimental Agriculture. 12: 287-294.
89. \_\_\_\_\_; WEDDERBURN, M.E.; TRAINOR, K.D. 1992. Reproductive phenology and natural reseeding of "Grassland Maku" *Lotus pedunculatus* in tussock grassland environments. New Zeland Journal of Agricultural Research 35: 157-162.
90. LOZANO, J.M.; ABECIA, J.A.; FORCADA, F.; ZARAZAGA, L.; ALFARO, B. 1998. Effect of undernutrition on the distribution of progesterone in the uterus of ewes during the luteal phase of the estrous cycle. Theriogenology 49: 539-546.
91. LUQUE, A.; BARRY, T.N.; McNABB, W.C.; KEMP, P.D.; McDONALD, M.F. 2000. The effect of grazing *Lotus corniculatus* during late summer-autumn on reproductive efficiency and wool production in ewes. Australian Journal of Agricultural Research 51: 385-391.
92. McFARLAND, M.; KIYMA, Z.; VAN KIRK, E.A.; MOSS, G.E. 2003. Influence of Short-Term Fasting on Ovarian Follicular Development in Ewes. Reproductive Physiology. In: University of Wyoming Annual Animal Science Research Report 2003. pp 32-34.
93. McNABB, W.C.; WAGHORN, G.C.; BARRY, T.N.; SHELTON, I.D. 1993. The effect of condensed tannins in *Lotus pedunculatus* on the digestion and metabolism of methionine, cysteine and inorganic sulphur in sheep. British Journal of Nutrition 70: 647-661.
94. \_\_\_\_\_; WAGHORN, G.C.; PETERS, J.S.; BARRY, T.N. 1996. The effect of condensed tannins in *Lotus pedunculatus* upon the solubilization and degradation of ribulose-1,5-bis-phosphate carboxylase (Rubisco) protein in the rumen and sites of Rubisco digestion. British Journal of Nutrition 76: 535-549.
95. McWILLIAMS, D.; DUNN, A.M.; ESQUIVEL, E.; WISE, M.E. 1998. Direct effects of luteal regression on anterior pituitary response to GnRH. Domestic Animal Endocrinology 15(4): 209-215.

96. MIN, B.R.; McNABB, W.C.; BARRY, T.N.; KEMP, P.D.; WAGHORN, G.C.; McDONALD, M.F. 1999. The effect of condensed tannins in *L.corniculatus* upon reproductive efficiency and wool production in sheep during late summer and autumn. *Journal of Agricultural Sciences (Cambridge)* 132: 323-334.
97. MOLLE, G.; BRANCA, A.; LIGIOS, S.; SITZIA, M.; CASU, S.; LANDAU, S.; ZOREF, Z. 1995. Effect of grazing background and flushing supplementation on reproductive performance in Sarda ewes. *Small Ruminant Research* 17: 245-254.
98. MONGET, P.; MONNIAUX, D. 1995. Growth factors and the control of folliculogenesis. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* 49: 321-333.
99. MONTGOMERY, G.W.; GALLOWAY, S.M.; DAVIS, G.H.; McNATTY, K.P. 2001. Genes controlling ovulation rate in sheep. *Reproduction* 121: 843-852.
100. MONTOSI, F. 1996. El valor nutricional de los taninos condensados en el género *Lotus*. In: *Producción y Manejo de Pasturas*. INIA Tacuarembó. Serie Técnica No. 80. pp. 107-111.
101. MUÑOZ-GUTIERREZ, M.; BLACHE, D.; MARTIN, G.B.; SCARAMUZZI, R.J. 2002. Folliculogenesis and ovarian expression of mRNA encoding aromatase in anoestrous sheep after 5 days of glucose or glucosamine infusion or supplementary lupin feeding. *Reproduction* 124: 721-731.
102. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 1985. *Nutrient Requirement of Sheep*. Sixth Revised Edition. National Academy Press. Washington, D.C., USA 112p.
103. NOTTLE, M.B.; HYND, P.I.; SEAMARK, R.F.; SETCHELL, B.P. 1988. Increases in ovulation rate in lupin feed ewes are initiated by increases in protein digested post-ruminally. *Journal of Reproduction and Fertility* 84: 563-566.
104. \_\_\_\_\_; SEAMARK, R.F.; SETCHELL, B.P. 1990. Feeding lupin grain for six days prior to a cloprostenol-induced luteolysis can increase ovulation rate in sheep irrespective of when in the oestrous cycle supplementation commences. *Reproduction Fertility and Development* 2: 189-192.

105. ORCASBERRO, R. 1985. Nutrición de la oveja de cría. In: Seminario Técnico de Producción Ovina (2º, 1985, Salto, Uruguay). Montevideo, SUL. pp. 91-107.
106. PADMANABHAN, V.; BROWN, M.B.; DAHL, G.E.; EVANS, N.P.; KARSCH, F.J.; MAUGER, D.T.; NEILL, J.D.; VAN CLEEFF, J. 2003. Neuroendocrine Control of Follicle-Stimulating Hormone (FSH) Secretion: III. Is There a Gonadotropin-Releasing Hormone-Independent Component of episodic FSH Secretion in Ovariectomized and Luteal Phase Ewes ?. *Endocrinology* 144(4): 1380-1392.
107. PALADINE, O.; LASCANO, C. 1983. Recomendación para evaluar germoplasma bajo pastoreo en pequeños potreros. In: Germoplasma Forrajero bajo Pastoreo en pequeñas parcelas. Metodología de Evaluación. C.I.A.T. pp 166-183.
108. PARR, R.A.; DAVIS, I.F.; SQUIRES, T.J.; MILES, M.A. 1992. Influence of lupin feeding before and after joining on plasma progesterone and fertility in Merino ewes. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production* 19: 185-187.
109. PEARCE, B.H.G.; McMENIMAN, N.P.; GARDNER, I.A. 1994. Influence of body condition on ovulatory response to lupin (*Lupinus angustifolius*) supplementation of sheep. *Small Ruminant Research* 13: 27-32.
110. PELUFFO, M. 2002. Efectos de gonadotropinas y un análogo de la hormona liberadora. In: Las Tesinas de Belgrano N°60. 36 p.
111. PERKS, C.M.; DENNING-KENDALL, P.A.; GILMOUR, R.S.; WATHES, D.C. 1995. Localization of messenger ribonucleic acids for insulin-like growth factor I (IGF-I), IGF-II, and the type 1 IGF receptor in the ovine ovary throughout the estrous cycle. *Endocrinology* 136: 5266-5273.
112. RABIEE, A.R.; LEAN, I.J.; GOODEN, J.M.; MILLER, B.G. 1997. Short-term studies of ovarian metabolism in the ewe. *Animal Reproduction Science* 47: 43-58.
113. RADFORD, H.M.; DONEGAN, S.; SCARAMUZZI, R.J. 1980. The effect of supplementation with lupin grain on ovulation rate, and plasma gonadotrophin levels in adult Merino ewes. *Animal Production in Australia* 13: p. 457.

114. RATTRAY, P.V.; JAGUSCH, K.T.; SMITH, J.F.; WINN, G.W.; McLEAND, K.S. 1980. Gettingan extra 20 % lambing from flushing ewes. Proceedings of the Ruakura Farmer 's Conference: 105-117.
115. RHIND, S.M.; McMILLEN, S.; McKELVEY, W.A.C. 1991. Effect off levels of food intake and body condition on the sensitivity of the Hypothalamus and Pituitary to ovarian steroid feedback in ovarictomized ewes. Animal Production 52: 115-125.
116. \_\_\_\_\_; McNEILLY, A.S. 1998. Effect of level of food intake on ovarian follicle number, size and steroidogenic capacity in the ewe. Animal Reproduction Science 52: 131-138.
117. RISSO, D.F.; BERRETTA, E. 1996. Mejoramientos de Campos en suelos sobre Cristalino. In: Producción y Manejo de Pasturas. INIA Tacuarembó. Serie Técnica No. 80. pp. 193-211.
118. \_\_\_\_\_. 2001. In: Lotus Maku: Manejo, utilización y producción de semillas. La Estanzuela-Treinta y Tres, INIA. Serie Técnica No. 119.
119. \_\_\_\_\_; BERRETTA, E.J.; ZARZA, A. 2001. Tecnologías para la mejora de la producción de forraje en suelos de Cristalino. INIA Tacuarembó. In: Tecnologías forrajeras para sistemas ganaderos de Uruguay. Boletín de Divulgación No. 76. pp. 39-67.
120. RITAR, A.J.; ADAMS, N.R. 1988. Increased ovulation rate, but not FSH or LH concentrations in ewes supplemented with lupin grain. Proceedings of the Australian Society of Animal Production 17: 310-313.
121. RUBIANES, E. 2000. Avances en el conocimiento de la fisiología ovárica de los pequeños rumiantes y su aplicación para el manejo reproductivo. Fisiología ovárica y manejo reproductivo. In: Actas de Fisiología 6: 93-103.
122. SCARAMUZZI, R.J. 1988. Reproduction research in perspective. Procceedings of the Australian Society of Animal Production 17: 57-73.
123. \_\_\_\_\_; DOWNING, J.A.; CAMPBELL, B.K.; COGNIE, Y. 1988. Control of Fertility and Fecundity of Sheep by Means of Hormonal Manipulation. Australian Journal of Biological Science 41: 37-45.

124. \_\_\_\_\_; ADAMS, N.R.; BAIRD, D.T.; CAMPBELL, B.K., DOWNING, J.A.; FINDLAY, J.K.; HENDERSON, K.M.; MARTIN G.B.; McNATTY, K.P.; McNEILLY, A.S.; TSONIS, C.G. 1993. A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in the ewe. *Reproduction Fertility and Development* 5: 459-478.
125. \_\_\_\_\_; MURRAY, J.F.; DOWNING, J.A.; CAMPBELL, B.K. 1999. The effects of exogenous growth hormone on follicular steroid secretion and ovulation rate in sheep. *Domestic Animal Endocrinology* 17: 269-277.
126. SHEATH, G.W. 1980. Effect of season and defoliation on the growth habit of *Lotus pedunculatus* Cav. cv. "Grassland Maku". *N.Z. Journal of Agricultural Research* 23: 191-200.
127. SMITH, J. F.; JAGUSCH, K. T.; FARQUHAR, P.A. 1983. The effect of the duration and timing of flushing on the ovulation rate of ewes. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* 43: 13-16.
128. \_\_\_\_\_. 1985. Protein, energy and ovulation rate. In: *Genetic of Reproduction*. New Zealand Ministry of Agriculture and Fisheries Research. pp. 349-359.
129. \_\_\_\_\_. 1988. Influence of Nutrition on Ovulation Rate in the Ewe. *Australian Journal of Biological Science* 41: 27-36.
130. \_\_\_\_\_; PAYNE, E.; PETERSON, A.J.; McGOWAN, L.T.; COPE, B.; McLAUGHLIN, R. 1990. Effects of Phenorbital, Dietary Protein Intake, and Ewe Liveweight on Ovulation Rate and Concentrations of Plasma FSH and Hepatic Microsomal Enzymes. *Reproduction and Fertility Development* 2: 623-632.
131. SOCA, P.; BERMUDEZ, R.; AYALA, W.; MANCUELLO, C.; ARRARTE, D.; PEREIRA, G.; LEIVA, G.; FERNANDEZ, M.; HERNANDEZ, P. 2001. Utilización de mejoramientos de campo con lotus El Rincón y lotus Maku para la recria vacuna en la zona Este del país. In: *Jornada de Difusión de Resultados. Utilización de mejoramientos de campo con lotus El Rincón y lotus Maku para la recria vacuna en la zona Este*. Rocha: Facultad de Agronomía, INIA Treinta y Tres, Grupo "Piedra Blanca", Sociedad Agropecuaria de Rocha. pp. 7-23.

132. SOUZA, C.J.; CAMPBELL, B.K.; BAIRD, D.T. 1998. Follicular waves and concentrations of steroids and inhibin A in ovarian venous blood during the luteal phase of the oestrous cycle in ewes with an ovarian autotransplant. *Journal of Endocrinology* 156: 563-572.
133. STATISTICAL ANALYSIS SYSTEMS INSTITUTE INC. 1999. SAS/STAT. User's Guide, Release 8,0 edn. SAS Institute Inc., Cary, NC.
134. STEWART, R.; OLDHAM, C.M. 1986. Feeding Lupin to ewes for four days during the luteal phase can increase ovulation rate. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production* 16: 367-370.
135. TABORA, R.S.; HILL, M.J. 1990. An experimentation of vegetative and reproductive growth habits and their contribution to seed yield in "Grassland Maku" lotus (*Lotus uliginosus* Schk). *Journal of Applied seed production* 9: 7-15.
136. TELENI, E.; KING, W.R.; ROWE, J.B.; McDOWELL, G.H. 1989a. Lupins and energy yielding nutrients in ewes. I. Glucose and acetate biokinetics and metabolic hormones in sheep fed a supplement of lupin grain. *Australian Journal of Agricultural Research* 40: 913-924.
137. \_\_\_\_\_; ROWE, J.B.; CROKER, K.P.; MURRAY, P.J.; KING, W.R. 1989b. Lupins and energy-yielding nutrients in ewes. II. Responses in ovulation rate in ewes to increased availability of glucose, acetate and amino acids. *Reproduction Fertility and Development* 1: 117-125.
138. THIMONIER, J.; MAULEON, P. 1969. Variations saisonnières du comportement d'oestrus et des activités ovarienne et hypophysaire chez les ovines. *Annales de Biologie Animale, Biochimie, Biophysique* 9: 233-250.
139. THOMAS, D.L.; THOMFORD, P.J.; CRICKMAN, J.G.; COBB, A.R.; DZUIK, P.J. 1987. Effects of plane of nutrition and phenobarbital during the pre-mating period on reproduction in ewes fed differentially during the summer and mated in the fall. *Journal of Animal Science* 64: 1144-1152.
140. THOMFORD, P.J.; DZUIK, P.J.; THOMAS, D.L.; GOODYEAR, J.L. 1983. Ovulation rate and level of hepatic steroid metabolizing enzymes (SME) in ewes fed supplemental corn and soybean meal (SBM) or phenobarbital prior to mating. *Journal of Animal Science* 83 (suppl. 1): 101 (59).



141. THOMPSON, L.H.; GOODE, L.; HARVEZ, R.W.; MYERS, R.M.; LINNERUD, A.C. 1973. Effect of dietary urea on reproduction in ruminants. *Journal of Animal Science* 37(2): 399-405.
142. \_\_\_\_\_; SMITH, J.F. 1988. Effect of nutrition on the ovulatory response of Coopworth ewes to varying doses of two FSH preparations. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* 48: 81-85.
143. THORBURN, G.D.; BASSET, J.M.; SMITH, I.E. 1969. Progesterone concentration in the peripheral plasma of sheep during the oestrus cycle. *Journal of Endocrinology* 45: 459-469.
144. TILLEY, J.M.; TERRY, R.A. 1963. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *Journal of the British Grassland Society* 18: 104-111.
145. ULYATT, M.J. 1981. The feeding value of temperate pastures. In: *Grazing Animals*. World Animal Science V B1. Ed. Morley, F.H.W., Elsevier. pp. 125-139.
146. VIÑOLES, C.; BANCHERO, G.; RUBIANES, E. 1999. Follicular wave pattern and progesterone concentrations in cycling ewes with high and low body condition score. *Theriogenology* 51: 437 (abstract).
147. \_\_\_\_\_; FORSBERG, M.; BANCHERO, G.; RUBIANES, E. 2001. Effect of long-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology* 55: 993-1004.
148. \_\_\_\_\_; FORSBERG, M.; BANCHERO, G.; RUBIANES, E. 2002. Ovarian follicular dynamics and endocrine profiles in Polworth ewes with high and low body condition. *Animal Science* 74: 539-545.
149. \_\_\_\_\_. 2003. Effect of Nutrition on Follicle Development and Ovulation Rate in the ewe. Doctoral thesis Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala 2003. 56 p.
150. WAGHORN, G.C.; ULYATT, M.J.; JOHN, A.; FISHER, M.T. 1987. The effect of condensed tannins on the site of digestion of amino acids and other nutrient in sheep feed on *Lotus corniculatus*. *British Journal of Nutrition* 57: 115-126.



151. \_\_\_\_\_; SMITH, J.F. 1990. The effect of protein and energy intake on physiological parameters and ovulation rate in ewes. Proceedings of the Australian Society of Animal Production 18: 563.
152. WALTON, J.P.; WAGHORN, G.C.; PLAIZIER, J.C.; BIRTLES, M.; McBRIDE, B.W. 2001. Influence of condensed tannins on gut morphology in sheep fed *Lotus pedunculatus*. Canadian Journal of Animal Science 81: 605-607.
153. WATERHOUSE, R.N.; SMYTH, A.J.; MASSONNEAU, A.; PROSSER, I.M.; CLARKSON, D.T. 1996. Molecular cloning and characterisation of asparagine synthetase from *Lotus japonicus*: Dynamics of asparagine synthesis in N-sufficient conditions. Plant Molecular Biology 30: 883-897.
154. WEDDERBURN, M.E. 1986. Effect of applied bitrogen, the increased inoculation, broadcast lime, and seed pelleting on establishment of *Lotus pedunculatus* cv. Grassland Maku lotus in tussock grasslands. New Zeland Journal of Experimental Agriculture. 14: 31-36.
155. WILLIAMS, A.H.; CUMMING, I.A. 1982. Inverse relationship between concentration of progesterone and nutrition in ewes. Journal of Agricultural Science 98: 517-522.
156. WILLIAMS, S.A.; BLACHE, D.; MARTIN, G.B.; FOOT, R.; BLACKBERRY, M.A.; SCARAMUZZI, R.J. 2001. Effect of nutritional supplementation on quantites of glucose transporters 1 and 4 in sheep granulosa and theca cells. Reproduction 122: 947-956.

## INFORME SEMANA 22/11/04

### LUNES:

Termine con las entregas de mes, por lo que fui a Salto entregando por ruta 3, en Salto visite la Veterinaria Bortagaray y la Cooperativa Calsal (ambas clientas nuestras) en esta oportunidad con la lista de precios de los productos nuevos, le mostré los precios y por esta vez no compraron nada. En el resto de la gira me fue bárbaro ya que vendí mas de lo previsto.

### MARTES:

Salí hacia Mercedes pero antes pase por Young donde realice algunas cobranzas, en Mercedes esa tarde visite tres tambos grandes donde deje precios y puse en aviso que habían llegado unos productos que podían ser útiles. Vamos bien y le vamos a entrar.

### MIÉRCOLES:

Visite la mayoría de los tambos de la zona (los mismos que liste en el informe del mes pasado) y tuve buena entrada, mas que nada en los tambos de 60-70 vacas.

JUEVES: Termine con los clientes de la zona y me entere de la existencia de algunos tambos mas como los que están en la radial de Palmitas, pero, debido a la planificación de la semana no los pude visitar por lo que quedaron para el mes próximo, al mediodía me reuní con Gabriel para contarle a Saavedra (Veterinario de la zona con mucha influencia sobre los productores) los nuevos productos que incorporamos, se mostró muy interesado, también cargue mercadería para Paysandú. En la tarde pase por Claldy donde realice unas cobranzas, también un par de entregas.

### VIERNES:

Cobranzas en Paysandú, Pili, Azucitrus, Cultivos (ofrecimiento un Calpa de los productos veterinarios), Moreno, etc. Se lo dedique a las cobranzas y levante buena plata.

### SABADO:

Cierre semanal, informe y planificación de la semana entrante. Cabe destacar que este mes ya se le entrego menos al tambo de Secco (1000 vacas) debido a que esta cerrando, tampoco se le entrego a Azucitrus (no esta en zafra) quien estaba comprando 300 lts de i-200, igualmente se facturaran 200 y 180 de cobranzas.

Saludos Gonzalo.