

UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN
CAMPUS LOMA BONITA

LICENCIATURA EN ZOOTECNIA

**EFFECTO DEL ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO SOBRE
LA CALIDAD EMBRIONARIA EN CONEJAS DE LA RAZA
NUEVA ZELANDA**

**TESIS PROFESIONAL
PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

LICENCIADO EN ZOOTECNIA

PRESENTA:

AUDEL RINCON ESTRADA

ASESOR:

DR. VICTOR MANUEL MEZA VILLALVAZO

LOMA BONITA, OAXACA, MÉXICO, 2019



Universidad del Papaloapan

| | |
|----------------|-------------------------------------|
| FECHA: | 13 de Junio del 2019 |
| AREA: | Vice-Rectoría Académica |
| OFICIO NUMERO: | UNPA/VRA/159/2019 |
| ASUNTO: | Autorización de Impresión de tesis. |

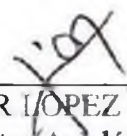
C. Audel Rincón Estrada

PRESENTE:

En base al artículo 120 del reglamento de alumnos, por medio de la presente se aprueba la impresión de la tesis titulada **“Efecto del ácido linoleico conjugado sobre la calidad embrionaria en conejas”** así como la programación del examen profesional bajo la dirección del Dr. Víctor Manuel Meza Villalvazo.

Sin más por el momento aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

Atentamente.
terra ubérrima, mens aperta
Bou Lo-tama, chi jí jú


MC. HÉCTOR LÓPEZ ARJONA
Vice-Rector Académico.



C.c.p. Dra. Tania Zúñiga Marroquín Jefe de Carrera de la Lic. En Zootecnia
C.c.p. L.P. Yesenia Barrientos Arenal. Jefa del Departamento de Servicios Escolares
C.c.p. Dr. Víctor Manuel Meza Villalvazo. Director de Tesis.
C.c.p. Archivo.

OAXACA



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

Campus Loma Bonita

Loma Bonita, Oaxaca a 13 de junio de 2019.

M.E. Yesenia Barrientos Arenal
Jefa del Departamento de Servicios Escolares
PRESENTE

Mediante la presente, le informo que la Vice-rectoría Académica, ha designado a los siguientes profesores como sinodales del examen profesional de el exalumno, el **C. Audel Rincón Estrada**, quien defenderá su trabajo de tesis titulado "*Efecto del ácido linoleico conjugado sobre la calidad embrionaria en conejas*", para obtener el título de Licenciado en Zootecnia.

Titulares:

Presidente: Dra. Gladis Morales Terán
Secretario: M.C. Carlos Iván Medel Contreras
Vocal: Dr. Víctor Manuel Meza Villalvazo

Suplentes:

Dr. Cecilio Ubaldo Aguilar Martínez
Dr. Nicolás Valenzuela Jiménez

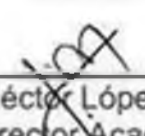
Sin más por el momento, le envié un cordial saludo.

Atentamente



Dra. Tania Zúñiga Marroquín
Jefa de Carrera de Lic. en Zootecnia

Vo. Bo.



M.C. Héctor López Arjona
Vice-rector Académico

C.c.p.: M.C. Hector López Arjona, Vicerector académico, Para su conocimiento
C.C.p: Archivo

DEDICATORIA

A Dios

Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su bendita bondad y amor.

A mí Madre

Araceli Estrada Pérez

Por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor.

A mi Padre

Federico Rincón Aguilar

Que los ejemplos de perseverancia y esfuerzo que lo caracteriza y que me ha infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante y por su amor.

AGRADECIMIENTOS

Al **Dr. Victor Manuel Meza Villalvazo** por su amistad, por su apoyo así como por la sabiduría que me transmitió en la realización de mi tesis.

A la **Dra. Gladis Morales Terán y MC. Carlos Ivan Medel Contreras**, por su disponibilidad de tiempo en la revisión del presente documento.

A la **Dra. Tania Zúñiga Marroquín**, por brindarme la confianza y el apoyo incondicional para ver culminado este proyecto de tesis.

A la **Universidad del Papaloapan** por haberme brindado la oportunidad de haberme formado en sus aulas y a cada uno de mis profesores que contribuyeron a mi formación profesional. **Gracias.**

ÍNDICE

| | |
|---|------|
| ÍNDICE DE CUADROS | vii |
| ÍNDICE DE FIGURAS | viii |
| RESUMEN | ix |
| ABSTRACT | x |
| 1. INTRODUCCIÓN | 1 |
| 2. REVISIÓN DE LITERATURA | 3 |
| 2.1. Generalidades..... | 3 |
| 2.2. Fuentes del CLA..... | 3 |
| 2.3. Metabolismo del CLA..... | 5 |
| 2.4. Implicaciones de los ácidos grasos a nivel ruminal para la producción de CLA y su presencia en fluidos de importancia biológica..... | 6 |
| 2.5. Producción de hormonas, tamaño folicular y fertilidad..... | 9 |
| 2.6. Calidad de los ovocitos y embriones..... | 13 |
| 3. HIPÓTESIS | 17 |
| 4. OBJETIVOS | 18 |
| 4.1. Objetivo general..... | 18 |
| 4.2. Objetivos específicos..... | 18 |
| 5. MATERIALES Y MÉTODOS | 19 |
| 5.1. Ubicación..... | 19 |
| 5.2. Animales, alimentación y manejo..... | 19 |
| 5.3. Cubrición, obtención y evaluación embrionaria..... | 20 |

| | |
|---------------------------------------|-----------|
| 5.4. Clasificación embrionaria..... | 20 |
| 5.5. Análisis estadístico..... | 21 |
| 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 22 |
| 7. CONCLUSIÓN..... | 29 |
| 8. LITERATURA CITADA..... | 30 |

ÍNDICE DE CUADROS

| | |
|---|----|
| Cuadro 1. Comportamiento productivo de conejas Nueva Zelanda alimentadas con dietas incluyendo niveles crecientes de CLA..... | 23 |
| Cuadro 2. Total de embriones recuperados en conejas Nueva Zelanda alimentadas con dietas incluyendo niveles crecientes de CLA..... | 25 |
| Cuadro 3. Número de células y diámetro de embriones de conejas Nueva Zelanda alimentadas con dietas incluyendo niveles crecientes de CLA a las 48 h post coito. | 25 |
| Cuadro 4. Calidad embrionaria en conejas Nueva Zelanda alimentadas con dietas incluyendo niveles crecientes de CLA | 27 |

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura1. Estructura química del ácido linoleico (cis 9, cis12) y de los dos principales isómeros del ácido linoleico conjugado (cis 9, trans11 y trans 10, cis 12) 4

Figura 2. Formación del CLA en el rumen y su transformación en glándula mamaria y en tejido adiposo..... 5

RESUMEN

Se evaluó la adición de niveles crecientes de ácido linoleico conjugado en la dieta de conejas sobre el desarrollo y calidad de los embriones. El presente estudio se realizó en el laboratorio de Biotecnología Animal, perteneciente a la Universidad del Papaloapan. Se utilizaron 15 hembras de la raza Nueva Zelanda con una edad de 28-30 días y un peso promedio de 620 ± 35 g al inicio del experimento, las cuales fueron distribuidas de manera aleatoria en tres tratamientos para su alimentación T0: (n=5) dieta comercial, TCLA1 (n=5): alimento comercial + 2.5% CLA, TCLA2 (n=5) alimento comercial + 5.0% CLA durante 90 días, transcurrido este periodo las hembras fueron cubiertas mediante monta natural y 48 h post coito fueron sacrificadas para recuperar y evaluar la calidad embrionaria. El peso final de los animales entre tratamientos tuvo una media general de 2.75 ± 0.216 kg, con un valor promedio de GDP fue de 35.1 ± 3.3 g/d, en ambas variables no mostro diferencia ($P > 0.05$). El número total de embriones recuperados, células totales y diámetro por embrión fueron mayores en el tratamiento TCLA2, en cuanto a la calidad embrionaria los tratamientos TCLA 1 y TCLA2 presentan un mayor porcentaje de embriones de excelente y buena calidad con respecto al testigo. La adición de ácido linoleico conjugado en dietas de conejas Nueva Zelanda no afecta la ganancia de peso vivo de las mismas, pero si favorece positivamente el número, desarrollo y calidad de los embriones.

Palabras Clave: Calidad embrionaria, ganancia diaria de peso, desarrollo embrionario.

ABSTRACT

The addition of increasing levels of conjugated linoleic acid in the diet of rabbits was evaluated on the development and quality of their embryos. The present study was carried out in the laboratory of Animal Biotechnology, at the University of the Papaloapan. 15 New Zealand breed females with an age of between 28-30 days and an average weight of 620 ± 35 g at the beginning of the cycle were used, they were randomly distributed in three different feeding treatments T0: (n = 5) commercial diet, TCLA1 (n = 5): commercial feed + 2.5% CLA, TCLA2 (n = 5) commercial feed + 5.0% CLA for 90 days, after this period the females were mated naturally and 48 h after intercourse were slaughtered to recover and evaluate embryo quality. The final weight of the animals between treatments had a general average of $2.75 + 0.216$ kg, with an average value of the GDP was 35.1 ± 3.3 g / d, there was no difference shown in either of the variables ($P > 0.05$). The total number of embryos recovered, the total cells and the diameter per embryo were greater in the TCLA2 treatment, in terms of the embryo quality, the TCLA 1 and TCLA2 treatments had a higher percentage of embryos of excellent and good quality with respect to the control. The addition of conjugated linoleic acid in New Zealand rabbit diets does not affect the live weight gain of the same, but it positively favors the number, development and quality of the embryos.

Key words: Linoleic acid, embryonic quality, daily weight gain, embryonic development.

1. INTRODUCCIÓN

El término de ácido linoleico conjugado o CLA (por sus siglas en inglés conjugated linoleic acid) hace referencia a un grupo de isómeros del ácido linoleico (Lapa et al., 2011). Se han descubierto alrededor de 28 isómeros del CLA, sin embargo los isómeros cis 9, trans 11 y trans 10, cis 12 son los más importantes por sus funciones biológicas (Kennedy *et al.*, 2010). Los isómeros cis 9, trans 11 y trans 10, cis 12 del CLA tienen varias funciones de importancia biológica entre las que se encuentran la anticarcinogénica, mejora la función inmunitaria (O'Shea et al., 2004), reduce la inflamación y antioxidativa (Nakamura y Omaye, 2010) y participación en el metabolismo de lípidos y regulación de la composición corporal (Feitoza *et al.*, 2009). El CLA se encuentra en pequeñas proporciones en los aceites vegetales, sin embargo, su concentración es particularmente alta en productos como la carne y en la leche, donde puede alcanzar hasta un 0,60 - 0,80% de los lípidos totales (Yurawecz *et al.*, 1998). En los rumiantes el CLA es obtenido principalmente a través de la biohidrogenación ruminal, aunque también existe otra ruta metabólica donde el ácido vaccénico que es producido por la hidrogenación del ácido linoleico en el rúmen, puede ser desaturado en el carbono 9 por las enzimas desaturasas intestinales, hepáticas y/o de la glándula mamaria de los rumiantes, transformándose en CLA. Por otra parte, en los mamíferos no rumiantes, incluidos los humanos, también se encuentra CLA en sus tejidos y secreciones,

como la leche, aunque en menor proporción que en los rumiantes (Azain, 2003). Una particularidad digestiva que hace superior al conejo respecto al cerdo es la cecotrofia, se ha sugerido que modificando la cantidad de microorganismos presentes en el ciego del conejo se puede incrementar la cantidad de CLA en la carne de conejo (Gómez-Conde *et al.*, 2006). Por otra parte, la participación del isómero t10c12 del CLA en el metabolismo de lípidos también ha sido observada durante la maduración de ovocitos in vitro, de acuerdo con lo reportado por Lapa *et al.* (2011) y Pereira *et al.* (2008) cuando los ovocitos son madurados en presencia del isómero t10c12 disminuye la cantidad de lípidos, se mejora la calidad de los ovocitos, embriones y la tasa de sobrevivencia a la criopreservación y micromanipulación. Sin embargo, el efecto de este isómero del CLA en la calidad embrionaria in vivo no ha sido establecido.

2.- REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Generalidades

El ácido linoleico conjugado (CLA) se define como una mezcla de ácidos grasos de cadena larga, derivados del ácido linoleico (C18:2, cis 9, cis 12, Omega-6), donde el término “conjugado” (De Blas, 2004 y Obregón *et al.*, 2009), se utiliza para describir un grupo de isómeros geométricos y posicionales de 18 carbonos con dos dobles ligaduras entre carbonos adyacentes (Bauman y Lock, 2006, Morales, 2009) como se muestra en la Figura 1.

Este ácido graso conjugado se presenta con diferente isomería geométrica, la que puede ser cis 7, trans 9, cis 9, trans 1, trans 10, cis 12, y cis 11, trans 12, aunque la estructura predominante en forma natural es la cis 9, trans 11 u otro es el isómero trans 10, cis 12 (Sanhueza *et al.*, 2002).

2. 2. Fuentes del CLA

La presencia del CLA en forma natural en los alimentos es relativamente escasa, aunque una mayor cantidad de este ácido graso se encuentra en los alimentos de origen animal, particularmente provenientes de los rumiantes, y cuya cantidad tiene relación con la dieta que recibe el animal, ya sea por el tipo de grano, forraje, pasto,

o suplemento. También puede influir la raza del animal, su ubicación geográfica o la estación del año (Sanhueza *et al.*, 2002; Morales, 2009). El CLA también se puede encontrar de forma sintética en pequeñas proporciones en los aceites vegetales (Sanhueza *et al.*, 2002; Bauman *et al.*, 2008).

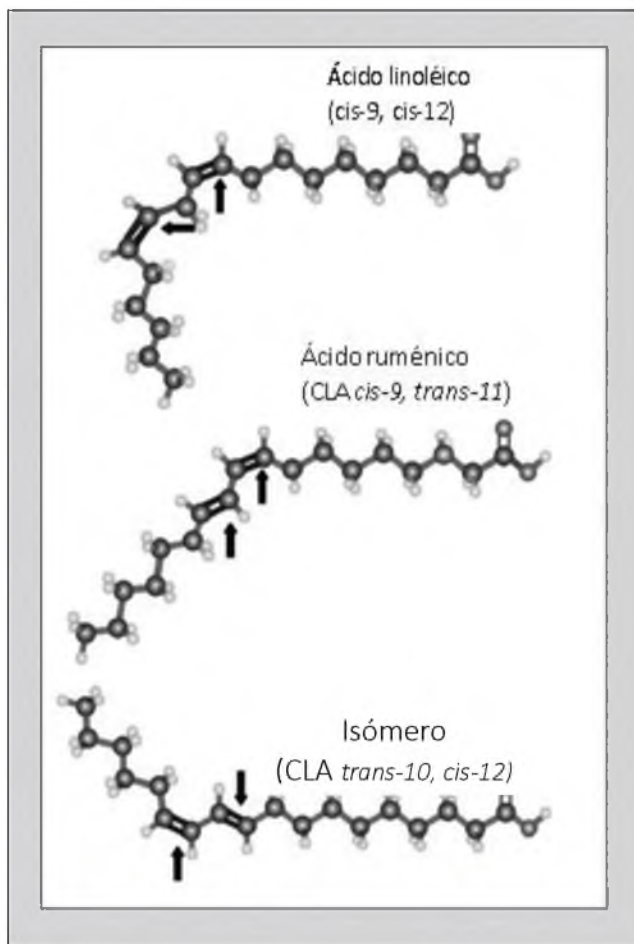


Figura1. Estructura química del ácido linoleico (cis 9, cis12) y de los dos principales isómeros del ácido linoleico conjugado (cis 9, trans 11 y trans 10, cis 12) (Haro *et al.*, 2006).

2.4. Implicaciones de los ácidos grasos a nivel ruminal para la producción de CLA y su presencia en fluidos de importancia biológica

Los Ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) de cadena larga, no pueden ser utilizados en grandes cantidades en la dieta de rumiantes debido a su efecto tóxico para ciertas especies de bacterias ruminales, lo que genera un impacto negativo en la digestión ruminal, particularmente sobre la fermentación de esta y tiene efectos negativos sobre el consumo de materia seca y por ende en la producción (Jenkins y Bridges, 2007). Sin embargo, la incorporación de grasas o aceites en la ración de forma protegida o mediante la incorporación de semillas oleaginosas es una vía para incrementar los ácidos grasos (AG) disponibles y aumentar la absorción intestinal sin afectar la flora microbiana ruminal, a la par que se evita o reduce la acción de ésta sobre los microorganismos ruminales (Doreau y Ferlay, 1994).

Cuando los AGPI son accesibles para la microflora del rumen, estos son hidrolizados (más del 80%) liberando los AG y glicerol, tras la hidrolisis los AGPI libres sufren un proceso llamado biohidrogenación que genera moléculas más saturadas (Aldrich *et al.*, 1995) consecuencia del proceso de hidrolisis y biohidrogenación, los AG que pasan al intestino delgado de los rumiantes son predominantemente AG libres (85-90%) mayormente saturados (80-90%), de los que el ácido esteárico (C18:0) representa dos terceras partes y el ácido palmítico el tercio restante (Plascencia *et al.*, 1999). Por lo tanto, el principal AG disponible para

la absorción intestinal en rumiantes es el ácido esteárico. Sin embargo, el ácido oleico es predominante en la musculatura de los rumiantes suponiendo un torno al 40% del total de los AG (Bas y Sauvant, 2001), esto es debido a que una gran parte del ácido esteárico absorbido es deshidrogenado previamente a su deposición tisular por la enzima Δ^9 - desaturasa (Schimid *et al.*, 2006). La pequeña fracción de AGPI que escapa a la biohidrogenación (10-15%) es absorbida en intestino y depositada como tal en la grasa de los tejidos lo que puede contribuir a modificar su perfil de ácidos grasos (Givens *et al.*, 2006). La alta variación en el contenido de CLA en los productos (leche y carne) derivados de los rumiantes está asociada con una serie de factores como son la dieta y el tipo de animal. De estos, la dieta presenta el mayor impacto y se ha constituido en la principal herramienta para incrementar el contenido de CLA en estos productos (Loor *et al.*, 2004), ya que el contenido de forraje de la ración influye en la cantidad y proporción de isómeros que pasan al intestino delgado (Khanal y Olson, 2004) y por ende a los fluidos de importancia biológica como pueden ser sangre y liquido folicular (Meza-Villalvazo *et al.*, 2014).

Bajo condiciones in vitro se ha demostrado que el uso de aceites de origen vegetal aumentan el nivel de CLA, disminuyen las concentraciones de C18:0 e incrementa las de ácido oleico (C18:1) (Agazzi *et al.*, 2004), debido a que la biohidrogenación del ácido linoleico es más eficiente en la producción de C18:1, y es un inhibidor competitivo de la biohidrogenación de CLA y ácido vaccénico, concentraciones

superiores a 517 ppm en líquido ruminal, inhiben su biohidrogenación hasta C18:0 de esta manera el ácido linoleico es el principal precursor de CLA (AbuGhazaleh y Holmes, 2007), a nivel ruminal incrementa la cantidad de AG disponibles para su absorción en el intestino delgado y circulación sanguínea (Perehouskei *et al.*, 2009).

En ovejas de pelo alimentadas con niveles crecientes de aceite de maíz presentan mayores concentraciones de los isómeros de CLA (Cis-9, Trans 11 y Trans-10, Cis-12) en líquido ruminal, mismos que pasan plasma sanguíneo y llegan a líquido folicular (Meza-Villalvazo *et al.*, 2014.), estos datos concuerdan a los reportados en bovinos (Fouladi-Nashta *et al.*, 2009; Cook *et al.*, 2011) y equinos (Headley *et al.*, 2012), cuando son alimentados con fuentes ricas en AGPI, lo cual confirma que la composición de los AG del plasma refleja la composición de los AG de la dieta y cambia el perfil de AG en líquido folicular (Fouladi-Nashta *et al.*, 2009), por tal motivo es necesario encaminar estudios que relacionen la composición del líquido folicular y la dieta, ya que en los procesos reproductivos de diversas especies, actúa como indicador de las necesidades nutricionales del ovocito, debido a que es el producto de la trasudación del plasma sanguíneo a través de la barrera folicular y de la actividad secretora de las células de la granulosa y la teca, generando un microambiente que influye sobre la morfología, desarrollo y maduración del ovocito (Shaaker *et al.*, 2012).

2.5. Producción de hormonas, tamaño folicular y fertilidad

Algunas investigaciones han sido publicadas recientemente en relación a como el CLA afecta los aspectos reproductivos en hembras rumiantes. Sin embargo, poco se sabe cómo esta mezcla de compuestos tiene sus efectos benéficos sobre la fertilidad, la adición de fuentes ricas en AGPI a dietas para rumiantes aumenta las concentraciones de colesterol, el cual actúa como sustrato para la producción de progesterona (Childs *et al.*, 2008), de esta manera, la suplementación con ácidos grasos puede incrementar la concentración de progesterona plasmática (Lopes *et al.*, 2009). Así, un aumento en la concentración de progesterona plasmática en ovejas partir del día 9 al 14 del ciclo estral, tiene un efecto benéfico para el establecimiento y mantenimiento de la preñez (Ghoreishi *et al.*, 2007), estudios realizados in vitro muestran que los lípidos intracelulares ocupan un mayor porcentaje del área esteroideogénica, los cuales actúan como precursores para la biosíntesis de progesterona como ésteres de colesterol (Coyral-Castel *et al.*, 2010). Salas *et al.* (2011) informa que vacas suplementadas con grasa de sobrepeso (4% del consumo MS) muestran un incremento de las concentraciones de colesterol y progesterona.

De igual manera, se ha relacionado las concentraciones de insulina en sangre con los lípidos dietarios y la actividad reproductiva, con respecto a esto Espinoza *et al.* (2008) informan una mayor concentración de insulina en plasma de ovejas

alimentadas con grasa bovina (2.5 ng / dl) en comparación al grupo control (1.78 ng / dl). Sin embargo, Herrera *et al.* (2003) no reporta diferencia en las concentraciones plasmáticas de esta hormona en ovejas alimentadas con 0 % y 3 % de aceite de maíz.

La insulina ejerce un efecto a nivel hipotalámico incrementando los niveles de glucosa en el tejido neural y en la hipófisis aumenta los receptores de IGF-1, provocando una mayor respuesta a la GnRH y promoviendo la secreción de gonadotropinas, reflejándose en una mejor respuesta ovárica y favoreciendo el desarrollo folicular, de tal manera que ovejas alimentadas con 6% de aceite de maíz en la dieta, presentan un mayor número total de folículos de mayor tamaño (≥ 5 mm) en comparación con el grupo testigo. Sin embargo, los folículos de tamaño pequeño (2.00 - 2.99 mm) y mediano (3 – 4.99) no muestran diferencia entre ovejas que consumieron aceite y el grupo testigo (Meza *et al.*, 2013) datos que concuerdan a lo reportado con Herrera *et al.* (2003) y Ghoreishi *et al.* (2007) quienes informan que la proporción de folículos pequeños y medianos no se modifica por adición de los ácidos grasos de la dieta, pero si existe un incremento en la talla y cantidad de folículos grandes. Por su parte Herrera-Corredor *et al.* (2010) observaron que la suplementación con aceite de soya aumenta el número de folículos preovulatorios en un ciclo estral en ovejas; sin embargo, en una siguiente fase no encontraron diferencias, lo que hace suponer que la dinámica folicular no es dependiente de la

suplementación grasa y que es más bien un efecto momentáneo dependiente de la cantidad de energía suministrada.

En vacas de carne, se ha demostrado que la suplementación con ácidos grasos aumenta el número de folículos de tamaño mediano a grande en los primeros días posparto (Lammoglia *et al.*, 1997) debido a que el ácido linoleico aumenta la producción de propionato el cual actúa como promotor de la secreción de insulina y aumenta la esteroidogénesis ovárica, provocando un incremento en la producción de estradiol (Zachut *et al.*, 2011).

Robinson *et al.*, (2002) reportan un incremento en plasma sanguíneo de estradiol en vacas lecheras suplementadas con ácidos grasos 18:3 y 18:2 en comparación con un grupo control, de igual manera, Zachut *et al.* (2008) informan una mayor concentración de estradiol en el plasma sanguíneo de vacas alimentadas con niveles bajos y altos de ácidos grasos poliinsaturados (4.9 y 5.1 pg / ml) en comparación con el grupo de control (3.5 pg / ml). Las concentraciones de estradiol en el plasma sanguíneo son positivamente relacionadas con la duración del estro (Mondal *et al.*, 2006), tamaño de folículos preovulatorios y mayores tasas de preñez en vacas (López *et al.*, 2007). Los niveles de estradiol en plasma sanguíneo se atribuyen a un aumento en la esteroidogénesis ovárica o posiblemente, a la disminución en el catabolismo de los esteroides en el hígado (Zachut *et al.*, 2011).

In vitro, la adición de ácido linoleico (C18:3), presente en el aceite de maíz, aumenta la vida media de la progesterona y estradiol (Piccinato *et al.*, 2010).

En cuanto al efecto del CLA sobre los eventos reproductivos, unos de los primeros reportes fueron publicados por Bernal-Santos *et al.* (2003), quienes observaron que en vacas lecheras que consumieron CLA a través de la dieta, no presentan efectos adversos a la primera ovulación, gestación y mantenimiento de la preñez durante las primeras 20 semanas.

En un primer estudio realizado por Castañeda *et al.*, (2005) en vacas lecheras alimentadas con diferentes niveles (31.6 y 63.2 g día⁻¹) e isómeros de CLA (trans-8, cis-10 (21.2 %), cis-9, trans-11 (21.8 %), trans-10, cis-12 (29.0 %), y cis-11, trans-13 (28.0 %) encontró que los días a la primera ovulación fueron menores en los animales alimentados con la dosis baja de CLA, así como un mayor porcentaje de preñez antes del día 185, posteriormente informa que vacas lecheras alimentadas con CLA en una proporción 50:50 de los isómeros cis-9, trans-11, trans-10, cis-12, presentan una mayor concentración de IGF-1 en plasma al igual que la relación P₄ y estradiol en líquido folicular e indica que la suplementación de CLA por cortos periodos de tiempo no afecta la secreción de PGF_{2α}. (Castañeda *et al.*, 2007).

Por su parte, De Veth *et al.*, (2009) analizaron una serie estudios para determinar los efectos de CLA en variables como: intervalo parto primer celo, intervalo parto

concepción y el porcentaje de gestación (CLA: 91% , Testigo: 72%). Los resultados mostraron una estrecha relación no sólo en la naturaleza de la respuesta, sino también que la adición de 10 g del isómero trans-10, cis-12 afecta de manera positiva en dichas variables.

El mecanismo a través del cual el CLA afecta la reproducción y mejora el estatus ovárico puede ser debido a la esteroidogénesis folicular y el aumento de las concentraciones circulantes de IGF-I, ya que bajo condición in vitro el CLA ha demostrado tener efecto sobre algunas hormonas del sistema endocrino y en la función de la células de la granulosa, se ha encontrado que CLA inhibe la producción de FSH e IGF-1, la cual esta inducida por la proliferación de células de la granulosa; aromatasa, proteína de transcripción GATA4, ARNm de IGF-1, y producción de 17β estradiol, por otra parte el CLA se comporta como regulador del peroxisoma activado por el proliferador del receptor gamma (PPAR) y homólogo de fosfatasa y tensina (PTEN) a nivel de células de la granulosa (Isha *et al.*, 2012).

2.6. Calidad de los ovocitos y embriones

La calidad de los ovocitos y un desarrollo embrionario temprano óptimo son importantes para el establecimiento de la preñez, ya que aseguran un mayor nacimiento de crías, tanto en los procesos de gestación natural, como en biotecnológicos aplicados a la reproducción animal. En todos los casos, el nivel y la

composición de la dieta alimenticia puede tener efectos sobre el ovocito y en el desarrollo embrionario temprano (Ashworth *et al.*, 2009).

La inclusión del 3 % de aceite pescado en la dieta de ovejas puede propiciar un efecto benéfico para producción de ovocitos y el desarrollo subsecuente del embrión in vivo, mientras que in vitro concentraciones altas pueden ser contraproducentes McEvoy *et al.* (2012), Por su parte Meza *et al.* (2013) al alimentar ovejas de pelo con niveles del 3 y 6 % de aceite de maíz observaron un mayor porcentaje de ovocitos de excelente y buena calidad, efecto favorecido por la mayor cantidad de C18:1 en líquido folicular, ya que dicho ácido graso impacta positivamente la morfología de los Complejo Ovocito Cumulos (COCs) (Aardema *et al.*, 2011) y es inofensivo en altas concentraciones, lo que puede compensar los efectos lipotóxicos de los ácidos grasos saturados mejorando la competencia de los ovocitos (Aardema *et al.*, 2013). Sin embargo, una acumulación excesiva de ácidos grasos provoca hiperlipidemia reduciendo su desarrollo a estadios embrionarios avanzados (Leroy *et al.*, 2010) posiblemente debido a que aumentan su vulnerabilidad al estrés oxidativo ya que, durante la fase de crecimiento y maduración, el ovocito acelera su metabolismo energético incrementando la presencia de especies reactivas al oxígeno (Valko *et al.*, 2007) mismas que pudieran incidir de manera negativa sobre su calidad.

En este sentido, la presencia de CLA (Cis-9, Trans-11 y Trans-10, Cis-12) en el líquido folicular pudiera poseer una actividad atrapante de radicales libres inhibiendo su efecto y favoreciendo la calidad ovocitaria in vivo, ya que se ha demostrado que el CLA posee dicha actividad cuando es comparado con antioxidantes sintéticos convencionales (Dinara *et al.*, 2000).

Estudios in vitro demuestran que la suplementación en los medios de cultivo del isómero Trans-10, Cis-12 reduce la acumulación excesiva de lípidos, disminuyendo la hiperlipidemia que caracteriza a los embriones cultivados in vitro, mejorando su resistencia y tolerancia a la manipulación (Pereira *et al.*, 2008), aumentando la competencia de ovocitos bovinos para convertirse en embriones de mejor calidad (Lapa *et al.*, 2011). Sin embargo, se sabe poco acerca de la captación de AG específica del ovocito al interior del folículo y cómo éste puede ser alterado por la dieta. Numerosos estudios in vitro en diversas especies han demostrado que el perfil lipídico de los ovocitos es dinámico y es influenciado por su ambiente externo (Adamiak *et al.*, 2005, 2006) permitiéndole a éste desarrollar un proceso selectivo para garantizar su protección y evitar el riesgo de daño celular (Santos *et al.*, 2008).

Por otra parte, la excelente y buena calidad de los ovocitos se ha correlacionado con aspectos morfológicos en las células del cumulus, correspondientes a los folículos preovulatorios que tienen mayor capacidad de desarrollo a etapa de blastocisto, posiblemente debido al aumento de la maduración citoplasmática

(Blondin y Serrard, 1995). Folículos pequeños de novillonas alimentadas con dietas altas en energía han reducido significativamente los niveles de ARNm que codifica IGFP-2, IGFP-4, los cuales son potencialmente reguladores de la biodisponibilidad de los IGFs, (Armstrong *et al.*, 2001).

La calidad del ovocito maduro in vivo resulta de especial interés, dado que, en esta fase, prácticamente se selecciona naturalmente por estos factores, los cuales pueden ser influenciados por la dieta y tienen la capacidad para interactuar con el ovocito a través del receptor IGF. Este es probablemente un factor crítico que controla la capacidad del ovocito para desarrollarse (Gonzales *et al.*, 2007). No obstante, se requiere realizar estudios adicionales que permitan confirmar si el CLA es responsable de la calidad ovocitaria y embrionaria, ya sea por efecto de disminución de los radicales libres o determinar cómo el CLA se distribuye a través de la membrana de ovocito y embriones para obtener células de mejor calidad.

3. HIPÓTESIS

La adición de ácido linoleico conjugado en dosis crecientes en la dieta de conejas mejora el desarrollo y calidad de los embriones

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General

Evaluar la adición de niveles crecientes de ácido linoleico conjugado en la dieta de conejas sobre el desarrollo y calidad de los embriones

4.2. Objetivos específicos

a) Evaluar los cambios de peso vivo de conejas alimentadas con ácido linoleico conjugado

b) Evaluar el efecto del ácido linoleico conjugado sobre la calidad de los embriones obtenidos in vivo

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Ubicación

El presente estudio se realizó en el laboratorio de Biotecnología Animal, perteneciente a la Universidad del Papaloapan. Ubicada en la Región Cuenca del Papaloapan, en las coordenadas Latitud Norte 18°04'52" y, Latitud Oeste 96°07'07", a una altura de 20 metros sobre el nivel del mar (INEGI, 2015).

5.2 Animales, alimentación y manejo

Se utilizaron 15 hembras de la raza Nueva Zelanda con una edad de 28-30 días y un peso promedio de 620 ± 35 g al inicio del experimento, las cuales fueron distribuidas de manera aleatoria en tres tratamientos para su alimentación: **T0**: (n=5) dieta comercial, **TCLA1** (n=5): alimento comercial + 2.5% CLA, **TCLA2** (n=5) alimento comercial + 5.0% CLA. La alimentación se oferto a libre acceso durante la fase experimental (60 días). Para asegurar que cada hembra consumiera la cantidad correcta de CLA, se les administro por vía oral con la ayuda de una jeringa de manera individual.

Los animales fueron pesados al inicio y final del experimento previo ayuno de 12 h con una balcula digital modelo PCR20 marca Torrey

5.3. Cubrición, obtención y de los embriones

Transcurrido los 90 días de la fase experimental, las hembras fueron expuestas a un macho para su cubrición, 48 h posteriores a la monta las hembras de cada grupo fueron sacrificadas para evaluar la calidad embrionaria.

5.4. Clasificación embrionaria

La clasificación embrionaria se realiza en una lupa estereoscópica marca Leica modelo EZ4, bajo los siguientes criterios descritos por Linder y Wright (1983).

Grado 1. Excelente. Embrión ideal, esférico, simétrico, células uniformes, buen color y textura.

Grado 2. Bueno. Forma irregular, imperfecciones ligeras, blastómeros levemente extruidos y algunas vesículas.

Grado 3. Pobre o regular. Alteraciones más severas, vesículas, algunas células degeneradas, presencia de blastómeros extruidos.

Grado 4. No transferible. Alteraciones graves, células degeneradas y de diferentes tamaños, gran cantidad de blastómeros extruidos, numerosas vesículas y grandes.

5.5. Análisis estadístico

Las variables peso vivo inicial, final y ganancia diaria de peso (GDP), se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) de acuerdo con el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + t_i + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} : Variables de respuesta

μ : media de la población

t_i : efecto del tratamiento

ε_{ijk} : error experimental

Los datos de calidad embrionaria fueron sometidos a una prueba de chi-cuadrada mediante el paquete estadístico SPSS Statistic Versión 2.3 a un nivel de significancia del ($P \leq 0.05$).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente estudio se evaluó el efecto de la suplementación de niveles crecientes de CLA en la dieta de conejas Nueva Zelanda sobre su comportamiento productivo, desde el destete hasta el sacrificio a los 90 días de edad.

El peso final de los animales entre los tratamientos no mostro diferencia ($P>0.01$), siendo la media general de 2.75 ± 0.216 kg, estos resultados son similares a los reportados por Corino *et al.* (2000), quien suplemento conejos de la raza Nueva Zelanda con aceites de semilla de girasol obteniendo un peso final de los animales de 2.8 ± 0.059 kg. Por su parte, Morounek *et al.* (2007) reporta 2.43 kg de peso vivo final en conejos suplementados con aceite comercial con 60% de CLA, de igual manera Palma *et al.* (2009) reporta un promedio de peso final de 2.08 ± 0.261 kg bajo condiciones similares al presente estudio. Las hembras tuvieron un patrón de crecimiento de acuerdo con la raza, ya que los reportes indican que la velocidad de crecimiento en esta raza es rápida, en las primeras semanas post destete y continua su crecimiento más lentamente conforme alcanza su peso máximo para el sacrificio (Pascual, 2007)

El valor promedio de GDP fue de 35.1 ± 3.3 g/d, no habiendo diferencia significativa para este parámetro entre los tratamientos ($P>0.05$), indicando que la adición de CLA no genero ningún efecto negativo sobre la GDP y peso final (Cuadro 1).

Cuadro 1. Comportamiento productivo de conejas Nueva Zelanda alimentadas con dietas incluyendo niveles crecientes de CLA.

| Parámetro | Tratamientos | | | |
|-----------|--------------|-------|-------|-------|
| | T0 | TCLA1 | TCLA2 | EEM |
| PI (g) | 590.3 | 585.7 | 536.5 | 115.0 |
| PF (g) | 2725 | 2865 | 2678 | 216 |
| GDP (g/d) | 32.8 | 36.7 | 35.9 | 3.3 |

PI: Peso inicial, PF: peso final, GDP: ganancia diaria de peso, T0: testigo, TCLA1: 2.5% CLA, TCLA2: 5.0% CLA. EEM: error estándar de la media

El número total de embriones recuperados, células totales y diámetro por embrión se presentan en el Cuadro 2 y 3 respectivamente. Se observa que el tratamiento TCLA2 presenta un mayor número de embriones recuperados cuando se compara con los tratamientos T0 y TCLA1, de igual manera estos embriones provenientes del tratamiento TCLA2 presentan un mayor número de células totales y diámetro en comparación con los embriones recuperados de los tratamientos T0 y TCLA1 ($P \leq 0.05$). Estos resultados pueden ser debido a que los lípidos de la dieta mejoran la fertilidad e influyen en el desarrollo folicular y la ovulación (Lucy *et al.* 1992). El ácido linoleico (n-6) es el AG más abundante en el líquido folicular (Marei *et al.*,

2010) y los perfiles de AG en el fluido folicular son afectados por la actividad estrogénica del folículo (Renaville *et al.*, 2010). En cuanto al número de embriones (Cuadro 2), en este estudio se observó un efecto favorable del CLA sobre esta variable, se sabe que el efecto de las grasas sobre el desarrollo folicular en diversas especies de interés productivo actúa como un posible indicador de la respuesta ovárica (Zeron *et al.*, 2002) mismo que se ve reflejado en el estado de desarrollo de los embriones. En el presente estudio se encontró un efecto de la suplementación de CLA a favor del grupo de conejas que lo recibieron sobre el número de embriones en estado de mórula, esto puede ser debido a que las moléculas que modifican los ácidos grasos en la membrana afectan las diferentes funciones estructurales, celulares e incluso vías de señalización (Spector y Yorek 1985, Talukdar *et al.*, 2005), adquiriendo una competencia para el desarrollo embrionario en gran medida de la maduración del ovocito (Duranton y Renard 2000, Rodríguez y Farin 2004), esto afecta principalmente las divisiones mitóticas hasta estadios preimplantatorios (Tarazona *et al.*, 2010).

Cuadro 2. Total de embriones recuperados en conejas Nueva Zelanda alimentadas con dietas incluyendo niveles crecientes de CLA.

| Tratamiento | Total de embriones Recuperados | Promedio |
|-------------|--------------------------------|--------------------------|
| T0 | 38 ^b | 7.6 ± 0.912 ^b |
| TCLA1 | 39 ^b | 7.8 ± 2.425 ^b |
| TCLA2 | 45 ^a | 9.0 ± 1.467 ^a |

a,b. Literales diferentes entre columna indican diferencia significativa (P≤ 0.05), T0: testigo,

TCLA1: 2.5% CLA, TCLA2: 5.0% CLA.

Cuadro 3. Número de células y diámetro de embriones de conejas Nueva Zelanda alimentadas con dietas incluyendo niveles crecientes de CLA a las 48 h post coito.

| Tratamiento | Número de células | Diámetro (µm) |
|-------------|----------------------------|----------------------------|
| T0 | 16.63 ± 0.514 ^b | 128.7 ± 1.513 ^b |
| TCLA1 | 16.84 ± 0.586 ^b | 129.2 ± 0.927 ^b |
| TCLA2 | 18.01 ± 0.447 ^a | 132.1 ± 1.996 ^a |

a,b. Literales diferentes entre columna indican diferencia significativa (P≤ 0.05), T0: testigo, TCLA1:

2.5% CLA, TCLA2: 5.0% CLA.

La calidad embrionaria se presenta en el cuadro 4. Donde se observa un mayor porcentaje de embriones de buena y excelente calidad recuperado de las conejas que consumieron CLA en la dieta en comparación con el grupo testigo, los resultados del presente experimento en cuanto a calidad embrionaria pueden ser debido a la inclusión de CLA en la dieta mejora la calidad embrionaria presentando efectos sobre la fluidez de la membrana celular y las propiedades biofísicas mejorando el desarrollo embrionario (Jahanian *et al.*, 2013), efecto que se ve reflejado en el presente estudio, otro aspecto importante que pudo haber influenciado la calidad de los embriones provenientes de los tratamientos TCLA1 y TCLA2, es la reducción del estrés oxidativo que se da de manera intrínseca en desarrollo embrionario, por tal motivo, la presencia de CLA en líquido folicular posee una actividad atrapante de radicales libres inhibiendo su efecto y favoreciendo la calidad ovocitaria y embrionaria in vivo, ya que se ha demostrado que el CLA posee dicha actividad cuando es comparado con antioxidantes sintéticos convencionales (Dinara *et al.*, 2000)

Estudios in vitro demuestran que la suplementación en los medios de cultivo el CLA reduce la acumulación excesiva de lípidos, disminuyendo la hiperlipidemia que caracteriza a los embriones cultivados in vitro, mejorando su resistencia y tolerancia a la manipulación (Pereira *et al.*, 2008), aumentando la competencia de ovocitos bovinos para convertirse en embriones de mejor calidad (Lapa *et al.*, 2011)

Cuadro 4. Calidad embrionaria en conejas Nueva Zelanda alimentadas con dietas incluyendo niveles crecientes de CLA.

| Tratamiento | Calidad embrionaria (%) | | | |
|--------------|-------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | Excelente | Buena | Regular | Mala |
| T0 | 26.3 ^{aB} | 31.6 ^{bA} | 21.0 ^{cB} | 21.1 ^{cA} |
| TCLA1 | 38.5 ^{aA} | 28.2 ^{bA} | 25.6 ^{cA} | 7.7 ^{dB} |
| TCLA2 | 40 ^{aA} | 33.3 ^{bA} | 22.2 ^{cB} | 4.5 ^{dB} |

a,b. A,B. Literales diferentes entre hileras y columna indican diferencia significativa ($P \leq 0.05$) respectivamente. **T0**: testigo, **TCLA1**: 2.5% CLA, **TCLA2**: 5.0% CLA

Estos resultados concuerdan a los reportados por Herrera *et al.*, 2008., quienes obtuvieron casi un 60% de embriones de excelente y buena calidad provenientes de ovejas alimentadas con dietas ricas en AGPI, esto puede ser explicado debido a que los AGPI incrementa en el número de cuerpos lúteos en y modifica la secreción total de progesterona por medio de una mayor disponibilidad de colesterol y otros precursores de hormonas esteroideas para el tejido lúteo, permitiendo un mejor desarrollo de los embriones durante los primeros días. Un estudio realizado por Cheng *et al* 2005, demuestran que la adición de AGPI en la dieta de rumiantes,

puede inhibir la síntesis de prostaglandina endometrial, lo que puede retrasar la lisis del cuerpo lúteo extendiendo las posibilidades del desarrollo embrionario y mejor calidad.

7- CONCLUSIÓN

La adición de ácido linoleico conjugado en dietas de conejas Nueva Zelanda no afecta la ganancia de peso vivo de las mismas, pero si favorece positivamente el número, desarrollo y calidad de los embriones.

8. LITERATURA CITADA

Aardema H, Lolicato F, Van de Lest CHA, Brouwera JF, Vaandrager AB, Van Tol HTA. 2013. Bovine cumulus cells protect maturing oocytes from increased fatty acid levels by massive intracellular lipid storage. *Biol Rep*; 88(6): 1-15.

Aardema H, Vos LAM, Lolicato F, Roelen AJB, Knijn MH, Vaandrager BA. 2011. Oleic acid prevents detrimental effects of saturated fatty acids on bovine Oocyte developmental competence. *Biol Rep*; 85: 62-69.

AbuGhazaleh AA, Holmes LD. 2007. Diet supplementation with fish oil and sunflower oil to increase conjugated linoleic acid levels in milk fat of partially grazing dairy cows *J. Dairy Sci*; 90(6): 2897–2904.

Adamiak SJ, Mackie K, Watt RG, Webb R, Sinclair KD. 2005. Impact of nutrition on oocyte quality: cumulative effects of body composition and diet leading to hyperinsulinemia in cattle. *Biol Reprod*; 73: 918-926.

Adamiak SJ, Powell K, Rooke JA, Webb R, Sinclair KD. 2006. Body composition, dietary carbohydrates and fatty acids determine post-fertilization development of bovine oocytes in vitro. *Reproduction*; 131: 247-258.

Agazzi A, Bayourthe C, Nicot MC, Troegeler-Meynadier A, Moncoulon R, Enjalbert FI. 2004. In situ ruminal biohydrogenation of fatty acids from extruded soybeans: effects of dietary adaptation and of mixing with lecithin or wheat straw. *Anim Feed Sci Technol*; 117: 165-175.

Aldrich CG, Merchen NR, Drackley JK. 1995. The effect of roasting temperature applied to whole soybeans on site of digestion by steers: I. Organic matter, energy, fiber, and fatty acid digestion. *J Anim Sci*; 73: 2120-2130.

Armstrong DG, McEvoy TG, Baxter G, Robinsons JJ, Hogg CO, Woad, KJ. 2001. Effect of dietary energy and protein on bovine follicular dynamics and embryo production in vitro: associations with the ovarian insulin-like growth factor system. *Biol Reprod*; 64: 1624-1632.

Ashworth CL, Luiza MT, Morag GH. 2009. Nutritional effects on oocyte and embryo development in mammals: implications for reproductive efficiency and environmental sustainability. *Philosophical transactions of the royal society biological sciences*; 364: 3351-3361.

Azain MJ. 2003. Conjugated linoleic acid and its effects on animal products and health in single-stomached animals. *Proc. Nutr. Soc.* 62(2):319-28.

Bas P, Sauvant D. 2001. Variation of lipid composition of adipose tissues and muscles in cattle. *INRA Prod Anim*; 14 (5): 311-322.

Bauman DE, Lock AL. 2006. Conjugated linoleic acid biosynthesis and nutritional significance. *Advanced Dairy Chemistry, Volume 2: Lipids, 3rd Edition*. pp. 93-135.

Bauman DE, Perfield JW, Harvatine KJ, Baumgard LH. 2008. Regulation of fat synthesis by conjugated linoleic acid: Lactation and the ruminant model. *J. Nutr.* 138:403-409.

Bernal-Santos G, Perfield WJ, Barbano DM, Bauman DE, Overton TR. 2003. Production responses of dairy cows to dietary supplementation with conjugated linoleic acid (CLA) during the transition period and early lactation. *J Dairy Sci*; 86:3218-3228.

Blondin P, Serrard MA. 1995. Oocyte and follicular morphology as determining characteristics for developmental competence in bovine oocytes. *Mol Reprod Dev*; 41: 54-62.

Castañeda GE, Benefield BC, Veth MJ, Santos NR, Gilbert RO, Butler WR. 2007. Evaluation of mechanism of action of conjugated linoleic acid isomers on reproduction in dairy cows. *J Dairy Sci*; 90: 4253-4264.

Castaneda-Gutierrez E, Overton TR, Butler WR, Bauman DE. 2005. Dietary supplements of two doses of calcium salts of conjugated linoleic acid during the transition period and early lactation. *J Dairy Sci.* 88:1078-1089.

Cheng Z, Abayasekara DR, Wathes DC. 2005. The effect of supplementation with n-6 polyunsaturated fatty acids on 1-, 2- and 3-series prostaglandin F production by ovine uterine epithelial cells. *Biochim Biophys Acta*; 2:128-35.

Childs S, Hennessy AA, Sreenan JM, Wathes DC, Cheng Z, Stanton C. 2008. Effect of level of dietary n-3 polyunsaturated fatty acid supplementation on systemic and tissue fatty acid concentrations and on selected reproductive variables in cattle. *Theriogenology.* 70: 595-611.

Cook RF, Bohnert DW, Moriel P, Hess BW, Mills RR. 2011. Effects of polyunsaturated fatty acid supplementation on ruminal in situ forage degradability, performance and physiological responses of feeder cattle. *J. Anim Sci*; 89: 3677-3689.

Corino CJ, Mourot S, Magni G, Rosi F. 2002. Influence of diet conjugated linoleic acid on growth, meat quality, lipogenesis, plasma leptin and physiological variables of lipid metabolism in rabbits. *J Anim Sci.* 80:1020-1028.

Coyral-Castel S, Ramé C, Fatet A, Dupont J. 2010. Effects of unsaturated fatty acids on progesterone secretion and selected protein kinases in goat granulosa cells. *Domst Anim Endocrin*; 38: 272-283.

De Blas CB. 2004. Cambios en el perfil de ácidos grasos en productos animales en relación con la alimentación animal y humana. Importancia del ácido linoleico conjugado.1. Rumiantes. XX Curso de especialización FEDNA. Barcelona, España.

De Veth JM, Bauman DE, Koch W, Mann GE, Pfeiffer AM, Butler WR. 2009. Efficacy of conjugated linoleic acid for improving reproduction: A multi-study analysis in early-lactation dairy cows. *J Dairy Sci*; 92: 2662-2669

Dinara S, Sengoku K, Tamate K, Harikana M, Ishikawa M. 2000. Effects of supplementation with free radical scavengers on the survival and fertilization rates of mouse cryopreserved oocytes. *Hum Reprod*; 16: 1976- 1981.

Doreau M, Ferlay A. 1994. Digestion and utilization of fatty acids by ruminants. *Anim Feed Sci Technol*; 45: 379-396

Duranthon V, Renard JP. 2000. The developmental competence of mammalian oocytes: a convenient but biologically fuzzy concept. *Theriogenology*, 55, 1277-1289.

Espinoza JL, Palacios A, Ortega R, Guillen A. 2008. Effect of fat supplementation on serum concentrations of progesterone, insulin, growth hormone and some lipid metabolites in Pelibuey ewes. *Arch Med Vet*; 40: 135-140.

Feitoza BA., Fernandes PA., Ferreira da Costa N., Gonçalves RB. Conjugated linoleic acid (CLA). 2009. effect modulation of body composition and lipid profile. *Nutr. Hosp*, 24(4):422-8.

Fouladi-Nashta AA, Wonnacott KE, Gutierrez GC, Gong JG, Sinclair, K.D, Garnsworthy PC 2009. Oocyte quality in lactating dairy cows fed on high levels of n-3 and n-6 fatty acids. *Reproduction*; 138: 771-781.

Ghoreishi SM, Zamiri MJ, Rowghani E, Hejazi H. 2007. Effect of a calcium soap of fatty acids on reproductive characteristics and lactation performance of fat-tailed sheep. *Pakistan J Biol Sci*; 10 (14): 2389-2395.

Givens DI, Kliem KE, Gibbs RA. 2006. The role of meat as a source of n-3 polyunsaturated fatty acids in the human diet. *Meat Sci*; 74: 209-218.

Gómez-Conde MS, Menoyo D, Chamorro S, Lopez-Bote CJ, García-Rebollar P, De Blas JC. 2006. Conjugated linoleic acid content in cecotrophes, suprarenal and intramuscular fat in rabbits fed commercial diets.. *World Rabbit Sci*,14: 95–99.

Gonzales PEI, Navarrete SL, Cruz TA, Domínguez RA, Sangines GR, Ramón UJ. 2007. Influencia de la suplementación en la dieta con levaduras y minerales sobre la producción de ovocitos de ovejas púberes estimuladas ováricamente. *Rev Cient*; 17: 77-82.

Haro AM, Artacho R, Cabrera-Vique C. 2006. Ácido linoleico conjugado: interés actual en nutrición humana. *MedClin (Barc)*, 127(13):508-15

Headley S, Coverdale JA, Jenkins TC, Klein CM, Sharp JL, Vernon KL. 2012. Dietary supplementation of conjugated linoleic acid in horses increases plasma conjugated linoleic acid and decreases plasma arachidonic acid but does not alter body fat. *J Anim Sci*; 90: 4876-4882.

Herrera CJ, Quintal FJ, Ku VJ, Williams GL. 2003. Effect of polyunsaturated fatty acids on follicular dynamics, pregnancy rate and ovaric response of Pelibuey sheep. *Trop Subtrop Agroecosyst*; 2: 101-104.

Herrera CJ, Ake LR, Ku-Vera JC, Williams GL, Quinta-Franco JA. 2008. Respuesta ovulatoria, estado de desarrollo y calidad de embriones de ovejas Pelibuey superovuladas suplementadas con ácidos grasos poliinsaturados. Tec Pecu Méx; 46: 107-1117.

Herrera-Corredor A, Salazar-Ortiz J, Morales-Terán G, Pro-Martínez, A, Gallegos-Sánchez J. 2010. Efecto del aceite de soya en la dieta y la condición corporal sobre la población folicular y tasa ovulatoria de ovejas Pelibuey en dos épocas reproductivas. Universidad y Ciencia; 26(2): 205-210.

INEGI. 2015. Prontuario de la información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Disponible en <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras>. 13 de mayo del 2018.

Isha S, Dheer S. 2012. Conjugated linoleic acids attenuate FSH- and IGF1-stimulated cell proliferation; IGF1, GATA4, and aromatase expression; and estradiol-17 β production in buffalo granulosa cells involving PPAR γ , PTEN, and PI3K/Akt. Reproduction; 144: 373-383.

Jahanian E, Nanaei AH, Kor NM. 2013. The dietary fatty acids and their effects on reproductive performance of ruminants. E Journal of Experimental Biology, 3(6): 95-97.

Jenkins TC, Bridges WC. 2007. Protection of fatty acids against ruminal biohydrogenation in cattle. *Eur F Lipid Sci Technol*; 109: 778-789.

Kennedy A., Martinez K., Schmidt S, Mandrup S, LaPoint K, McIntosh M. 2010. Antiobesity mechanisms of conjugated linoleic acid. *J. Nutr. Biochem.* 21 (3):171-9.

Khanal RC, Olson KC. 2004. Factors Affecting Conjugated Linoleic Acid (CLA) Content in Milk, Meat and egg: A review. *Pakistan J Nutr*; 3(2): 82-98.

Lammoglia MA, Bellows RA, Grings EE, Bergman JW, Short RE, MacNeil MD. 1997. Effects of dietary fat composition and content, breed and calf sex on birth weight, dystocia, calf vigor and postpartum reproduction of first calf beef heifers. *Proc West Sec Amer Soc Anim Sci*; 48: 81-84.

Lapa M, Marques CC, Alves SP, Vasques MI, Batista MC, Carvalhais I. 2011. Effect of trans-10 cis-12 conjugated linoleic acid on bovine oocyte competence and fatty acid composition. *Reprod Domest Anim*; 46: 904-910.

Leroy MR, Hoeck VV, Clemente M, Rizos D, Gutierrez AA, Soom VA. 2010. The effect of nutritionally induced hyperlipidaemia on in vitro bovine embryo quality. *Hum Reprod*; 25(3): 768-778.

Lindner GM, Wright RW. 1983. Bovine embryo morphology and evaluation. *Theriogenology*, 20(4): 407-416

Loor JJ, Ueda K, Ferlay A, Doreau M, Chilliard Y. 2004. Biohydrogenation duodenal flow and intestinal digestibility of trans fatty acids and conjugated linoleic acids in response to dietary forage: concentrate ratio and linseed oil in dairy cows. *J Dairy Sci*; 87: 2472-2485.

Lopes AS, Butler ST, Gilbert RO, Butler WR. 2007. Relationship of preovulatory follicle size, estradiol concentrations and season to pregnancy outcome in dairy cows. *Anim Reprod Sci*; 99: 34-43.

Lopes N, Scarpa AB, Cappelozza BI, Cooke RF, Vasconcelos JLM. 2009. Effects of rumen-protected polyunsaturated fatty acid supplementation on reproductive performance of *Bos indicus* beef cows. *J Anim Sci*; 87: 3935-3943.

Lucy MC, Savio JD, Badinga L, de la Sota RL, Thatcher WW. 1993. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J. Anim Sci*, 70:3615-3626.

Marei WF, Whates CD, Fouladi-Nashta A. 2010. Impact of linoleic acid on bovine oocyte maturation and embryo development. *Reproduction*, 139: 979-988.

McEvoy TG, Onal AG, Speake BK, Robinson JJ. 2012. Impact of contrasting fish oil concentrations in the diet on ovine embryo development in vivo and of corresponding diet-specific derivative será during in vitro culture. *J Anim Feed Sci*; 21:31-48.

Meza-Villalvazo V, Magaña S, Sandoval C, Morales M, Chay A, Trejo A. 2013. Efecto de los ácidos grasos poliinsaturados sobre población folicular y calidad ovocitaria en ovejas Pelibuey. *Universidad y Ciencia*; 29(3):255-261.

Meza-Villalvazo V, Trejo CA, Magaña SH, Sandoval CC, Chay-Canul A, Cavazos GA. 2014. Perfil metabólico de isómeros de Ácido Linoleico Conjugado y calidad de ovocitos en ovejas de pelo. *Nova Scientia*; 12 (2): 287-303.

Mondal M, Rajkhowa C, Prakash BS. 2006. Relationship of plasma estradiol-17 beta, total estrogen, and progesterone to estrus behavior in mithun (*Bos frontalis*) cows. *Horm Behav*; 49: 626-633.

Morounek M, Skrivanova E, Volek Z. 2007. Effect of triacylglycerols of medium-chain fatty acids on growth rate and mortality of rabbits weaned at 25 and 35 days of age. *Veterinarian Medicine*, 54(1):19-24.

Morales J. 2009. Efectos de la adición de ácido linoleico conjugado (CLA) a los piensos de cerdos sobre los rendimientos productivos, la calidad de la canal y de la

carne. Congreso internacional sobre alimentación animal: Seguridad alimentaria e innovación Donostia-San Sebastián; PigCHAMP Pro-Europa, SA.

Nakamura YK., Omaye ST.2010. Lipophilic compound-mediated gene expression and implication for intervention in reactive oxygen species (ROS)-related diseases: mini-review. *Nutrients*. 2 (7):725-36.

O`Shea M., Bassaganya-Riera J., Mohede IC. 2004. Immunomodulatory properties of conjugated linoleic acid. *Am. J. Clin. Nutr*, 79:1199S-1206S

Obregón AMR, Valenzuela AB. 2009. Ácido linoleico conjugado (ALC), metabolismo de lípidos y enfermedades cardiovasculares. *Revista Chilena de Nutrición*, 36: 6-10.

Palma OR, Hurtado EA. 2009. Productive behavior in rabbits during the fattening growth period-fed with mango (*Mangifera indica*) as partial substitution of the commercial balanced food. *Revista científica UDO Agrícola*, 9(4): 968-971.

Pascual M. 2007. Efecto de la selección por velocidad de crecimiento sobre la composición de la canal y calidad de la carne de conejo. *Boletín de Cunicultura*. No. 154, Nov.-Dic. 2007. Departamento de Ciencias Animales. Universidad Politécnica de Valencia. GEspaña.

Perehouskei AK, Nunes PI, Bim CFL, Paulo RL, Martin PR, Pizzi RP. 2009. Fatty acid composition in blood plasma and follicular liquid in cows supplemented with linseed or canola grains. *Asian-Aust. J Anim Sci*; 22(9): 1248-1255.

Pereira RM., Carvalhais I., Pimenta J., Baptista MC., Vasques MI., Horta AE., Santos IJ., Marques MR., Reis A., Pereira MS., Marques CC. 2008. Biopsied and vitrified bovine embryos viability is improved by trans10, cis12 conjugated linoleic acid supplementation during in vitro embryo culture.. *Anim Reprod Sci*, 106 (3-4):322-332.

Piccinato CA, Sartori R, Sangsritavong S, Souza AH, Grummer RR, Luchini D. 2010. In vitro and in vivo analysis of fatty acid effects on metabolism of 17 β -estradiol and progesterone in dairy cows. *J Dairy Sci*; 93: 1934-1943.

Plascencia JA, Torrentera N, Zinn RA. 1999. Influence of the β -Agonist, Zilpaterol, on Growth Performance and Carcass Characteristics of Feedlot Steers. *P W Am Soc Anim Sci*; 50: 331-334.

Renaville B, Glenn KL, Mote BE, Fan B, Stalder KJ, Rothschild MF. 2010. SREBP pathway genes as candidate markers in country ham production. *Ital J Anim. Sci*; 9:7. DOI: [10.4081/ijas.2010.e7](https://doi.org/10.4081/ijas.2010.e7)

Robinson RS, Pushpakumara PGA, Cheng Z, Peters AR, Abayasekara DRE, Wathes DC. 2002. Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on ovarian and uterine function in lactating dairy cows. *Reproduction*, 124: 119-131.

Rodriguez KF, Farin CE, 2004. Gene transcription and regulation of oocyte maturation. *Reprod Fertil Dev*, 16: 55-67.

Salas RG, Herrera CJ, Gutierrez VEE, Ku VJC, Ake LJR. 2011. Postpartum ovarian activity resumption and plasma concentration of lipid metabolites and progesterone in cows supplemented with bypass fat. *Trop Subtrop Agroecosyst*; 14: 385–392.

Sanhueza JC, Valenzuela AB, Nieto SK. 2002. Ácido linoleico conjugado: un ácido graso con isomería *trans* potencialmente beneficioso. *Revista Chilena de Nutrición*. 29: 5-10.

Santos JPG, Bilby TR, Thatcher WW, Staples CR, Silvestre FT. 2008. Long chain fatty acids of dietas factors influencing reproduction in cattle. *Reprod Domest Anim*; 43: 23-30.

Schmid A, Collomb M, Sieber R, Bee G. 2006. Conjugated linoleic acid in meat and meat products: A review. *Meat Sci*; 73: 29-41.

Shaaker M, Rahimipour A, Nouri M, Khanaki K, Darabi M, Farzadi L. 2012. Fatty acid composition of human follicular fluid phospholipids and fertilization rate in assisted reproductive techniques. *Iran Biomed J*; 16(3): 162-168.

Spector AA, MA Yorek. 1985. Membrane lipid composition and cellular function. *J Lipid Res*, 26: 1015-1035.

Talukdar I, Szeszel-Fedorowicz W, Salati LM. 2005. Arachidonic acid inhibits the insulin induction of glucose-6-phosphate dehydrogenase via p38 MAP kinase. *J Biol Chem*. 280: <http://www.jbc.org/cgi/doi/10.1074/jbc.M505531200>.

Tarazona AM, López A, Olivera-Ángel M. 2010. La competencia del oocito: qué, cómo y cuándo. *Acta Biol Col*, 15:3-18.

Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*; 39: 44-84.

Yurawecz MP, Roach JA, Sehat N, Mossoba MM, Kramer JK., Fritschw J., Steinhart H., Ku Y. 1998. A new conjugated linoleic acid isomer, 7 trans, 9 cis-octadecadienoic acid, in cow milk, cheese, beef and human milk and adipose tissue. *Lipids* 33(8):803-9.

Zachut M, Ariel A, Moallem U. 2011. Incorporation of dietary n-3 fatty acids into ovarian compartments in dairy cows and the effects on hormonal and behavioral patterns around estrus. *Reproduction*; 141. 833-840.

Zachut M, Arieli A, Lehrer H, Argov N, Moallem U. 2008. Dietary unsaturated fatty acids influence preovulatory follicle characteristics in dairy cows. *Reproduction*; 135: 683-692.

Zeron Y, Sklan D, Arav A. 2002. Effect of polyunsaturated fatty acid supplementation on biophysical parameters and chilling sensitivity of ewe oocytes. *Mol Reprod Dev.* 61:271-278.