



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN
CAMPUS LOMA BONITA

LICENCIATURA EN ZOOTECNIA

**EFFECTO DEL NIVEL SUPLEMENTARIO DE ACEITE DE MAÍZ
SOBRE LA DIGESTIBILIDAD IN VITRO, CALIDAD
FOLICULAR Y OVOCITARIA EN OVEJAS PELIBUEY.**

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
LICENCIADO EN ZOOTECNIA

PRESENTA:

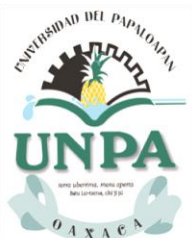
OZIEL OCAMPO CAZARÍN

DIRECTOR DE TESIS: M.C. VICTOR M. MEZA VILLALVAZO

CO- DIRECTOR: Dr. ALFONSO JUVENTINO CHAY CANUL

ASESOR: Dr. JOSE ABAD ZAVALA

LOMA BONITA, OAXACA, MÉXICO, MARZO DE 2014



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

LICENCIATURA EN ZOOTECNIA

LA PRESENTE TESIS TITULADA “EFECTO DEL NIVEL SUPLEMENTARIO DE ACEITE DE MAÍZ SOBRE LA DIGESTIBILIDAD IN VITRO, CALIDAD FOLICULAR Y OVOCITARIA EN OVEJAS PELIBUEY”, PRESENTADO POR EL PASANTE **C. OZIEL OCAMPO CAZARÍN** BAJO LA DIRECCIÓN DEL **MC. VICTOR MANUEL MEZA VILLALVAZO**, HA SIDO REVISADA Y ACEPTADA POR EL JURADO EXAMINADOR PARA SER DEFENDIDA EN EL EXAMEN PROFESIONAL Y OBTENER EL TÍTULO DE LICENCIADO EN ZOOTECNIA.

JURADO EXAMINADOR

LOMA BONITA, OAXACA, MÉXICO, MARZO DE 2014

DEDICATORIA

A mis Padres:

Aquilino y Marcela

Porque sin ellos no hubiera sido posible el alcance de esta meta

Mis Hermanos:

Oved y Hernán

Por complementar ese apoyo tan necesario en la vida de todo ser Humano

AGRADECIMIENTOS

A todos los que de manera directa e indirecta cooperaron en mi formación, no solo académica, si no espiritual, moral y como Ser Humano.

“GRACIAS”

ÍNDICE

	Pág
INDICE DE TABLAS.....	i
ABREVIATURAS.....	ii
RESUMEN.....	iii
ABSTRACT.....	iv
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. HIPÓTESIS.....	2
3. OBJETIVOS.....	3
3.1. General.....	3
3.2. Específico.....	3
4. REVISIÓN DELITERATURA.....	4
4.1. Suplementación lipídica.....	4
4.2. Fuentes de ácidos grasos	4
4.3. Técnicas de fermentación ruminal	5
4.4. Ácidos grasos e implicaciones a nivel ruminal.....	7
4.5. Ácidos grasos y su importancia en la reproducción.....	8
4.5.1. Secreción de Hormonas.....	9
4.5.2. Respuestas reproductivas.....	12
5. MATERIALES Y METODOS.....	15
5.1.Experimento 1.	15
5.1.1. Dietas y tratamientos.....	15
5.1.2. Preparación del medio.....	16

5.1.3. Inoculo.....	16
5.1.4. Preparación de las muestras.....	17
5.1.5. Incubación.....	18
5.1.6. Producción de gas <i>in vitro</i>	18
5.1.7. Filtrado.....	18
5.1.8. Análisis estadístico.....	19
5.2. Experimento 2.....	19
5.2.1. Localización.....	19
5.2.2. Animales.....	19
5.2.3. Tratamientos.....	20
5.2.4. Sincronización de celos.....	20
5.2.5. Determinación de la población folicular y obtención de ovocitos.....	21
5.2.6. Análisis estadístico.....	22
6. RESULTADOS.....	23
7. DISCUSIÓN.....	28
8. CONCLUSIÓN.....	31
9.LITERATURA CITADA.....	32

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Efecto del nivel de aceite de maíz sobre el volumen de gas acumulado <i>in vitro</i> a las 24 h	23
Tabla 2. Efecto del nivel de aceite de maíz sobre la digestibilidad <i>in vitro</i> de pasto <i>Digitaria Decumbens</i> a las 24 h	24
Tabla 3. Población y Tamaño folicular en ovejas Pelibuey suplementadas con tres niveles de aceite de maíz	25
Tabla 4. Calidad ovocitaria en ovejas Pelibuey suplementadas con tres niveles de aceite de maíz	26
Tabla 5. Proporción de ovocitos recuperados en ovejas Pelibuey suplementadas con tres niveles de aceite de maíz	27

ABREVIATURAS

MO: Materia Orgánica

MS: Materia Seca

AG: Ácidos Grasos

AGM: Ácidos Grasos Monoinsaturados

AGI: Ácidos Grasos Insaturados

AGPI: Ácidos Grasos Poliinsaturados

LH: Hormona luteinizante

FSH: Hormona Folículo Estimulante

P₄: Progesterona

PGF_{2α}: Prostaglandina F_{2α}

RESUMEN

El presente estudio se realizó en la Universidad del Papaloapan Campus Tuxtepec con el objetivo de evaluar el efecto de diferentes niveles de aceite de maíz sobre la digestibilidad *in vitro* de dietas basadas en pasto y sobre aspectos reproductivos en la oveja Pelibuey, para lo cual se plantearon dos experimentos. 1. “Digestibilidad *in vitro*”, se probó la inclusión de cuatro niveles de aceite sobre la digestibilidad *in vitro* de dietas basadas en pasto, la digestibilidad se realizó por 24 h, en la cual se observó que los niveles 3 y 6 % de inclusión de aceite en la dieta producen un mayor volumen de gas acumulado (268 mL y 252 mL) respectivamente, sin embargo la digestibilidad del tratamiento TA3 es estadísticamente mayor ($P < 0.05$) comparada con los tratamientos de mayor inclusión de aceite. 2. Se Utilizaron 15 ovejas Pelibuey distribuida al azar en tres tratamientos en función del nivel de aceite en la dieta. TA0: 0%, TA3: 3%, TA6: 6%, los celos fueron sincronizados artificialmente con PGF 2α y FGA, el día 28 del experimento los animales fueron sacrificados para recuperar los ovarios, a los cuales se les midió el tamaño de folículos y mediante punción la obtención de los folículos. Se encontró diferencia ($P < 0.05$) tanto para el tamaño de folículos de talla grande como para ovocitos de excelente calidad para el tratamiento TA3 en comparación con los tratamientos TA0 y TA6. En conclusión, la adición de aceite entre el 3 y 6% de aceite de maíz en dietas basadas en pasto, no afecta la degradabilidad *in vitro* de la materia seca, ni modifica el tamaño y el número de folículos pequeños y medianos, pero si la población de folículos grandes, mejorando la calidad de los ovocitos recolectados.

ABSTRAC

The present study it realized in the University of the Papaloapan Campus Tuxtepec with the evaluated the level corn oil oil on the in vitro digestibility diets based on pasture and effect on reproductive aspects in the sheep Pelibuey, for which two experiments. 1. " In vitro digestibility ", the incorporation of four levels of oil on the in vitro digestibility of diets based on pasture, the digestibility has realized for 24 h, in which is observed that levels 3 and 6 % of incorporation corn oil in the diet produce a major volume of gas accumulated (268 and 252) respectively, nevertheless digestibility of the treatment TA3 is statistically major ($P < 0.05$) compared with treatments of major incorporation corn oil. 2 "Quality follicles and eggs". There were in use 15 sheeps Pelibuey distributed at random in three treatments depending on the level of oil in the diet. TA0: 0 %, TA3: 3 %, TA6: 6 %, the jealousies were synchronized artificially with PGF2a and FGA, on the 28th of the experiment the animals were sacrificed to recover the ovaries, to which the size of follicles measured and means of puncture the obtaining of the follicles. One found difference ($P < 0.05$) so much for the size of follicles it details big as for eggs of quality supreme in the treatment TA3 against treatments TA0 and TA6. In conclusion, the addition corn oil between 3 and 6 % of oil of maize in diets based on pasture, it neither affects the in vitro degradability of the dry matter, not modifies the height and the number of small and medium follicles, but if the population of big follicles, improving the quality of the eggs gathered.

1. INTRODUCCIÓN

La reproducción en los rumiantes está influenciada por diversos factores tales como: especie, raza, estado fisiológico, nutrición entre muchos más. Y dentro de estos la nutrición tiene un papel preponderante específicamente la energía, ya que un aporte de grasa en la dieta representa una fuente importante de esteres de ácidos grasos y en consecuencia energía. Los ácidos grasos (AG) han demostrado tener efectos concretos en diferentes tejidos, con beneficios potenciales para la fertilidad. Estos beneficios parecen ser independientes de la disposición de calorías y cambios en el estado energético del animal (Santos *et al.*, 2008). Los diferentes efectos de los AG en los tejidos reproductivos han sido demostrados *in vitro* e *in vivo* en la esteroidogénesis, metabolismo de las células endometriales, calidad y desarrollo de embriones (Fuston, 2004). Sin embargo, los resultados de los trabajos de investigación son contradictorios ya que la composición de AG de diferentes fuentes varía en su perfil. Sin embargo, al alimentar rumiantes con grasas naturales, sin ningún tipo de tratamiento nos encontramos con varios problemas: la grasa recubre la fibra disminuyendo la digestibilidad de la misma, baja el pH ruminal, acidifica el rumen, alterando las condiciones para que las bacterias trabajen adecuadamente; los AGI ejercen un efecto tóxico sobre las bacterias del rumen, los microorganismos biohidrogenan los AGI modificando su perfil (Weiss *et al.*, 2004), perdiéndose con ello la posibilidad que el rumiante sea más eficiente en la síntesis de las hormonas sexuales y por lo tanto el comportamiento reproductivo del animal.

2. HIPÓTESIS

La suplementación con aceite de maíz en dietas basadas en pasto favorece la dinámica folicular en las ovejas Pelibuey y por ende, la calidad folicular.

3.- OBJETIVOS

3.1. General

Evaluar el efecto del aceite de maíz sobre la digestibilidad *in vitro* de dietas basadas en pasto y su efecto sobre aspectos reproductivos en la oveja Pelibuey

3.2. Específicos

a) Evaluar la adición de diferentes niveles de aceite maíz sobre la degradación *in vitro* en dietas para rumiantes basadas en pasto.

b). Evaluar el uso de la suplementación de aceite de maíz sobre la calidad folicular y ovocitaria en ovejas Pelibuey.

4.- REVISION DE LITERATURA

4.1. Suplementación Lipídica

Uno de los principales problemas que disminuyen la producción ya sea de carne o leche de rumiantes, son los eventos endocrinos que tienen lugar durante el periodo posparto, modificando la eficiencia reproductiva tanto de novillas como hembras adultas. Mientras que en la especie ovina, los trabajos de suplementación alimenticia con fuentes lipídicas se realizaron originalmente para elevar el valor energético de la ración y mejorar la ganancia de peso y calidad de la carne en los corderos, así como la cantidad y calidad lipídica de la leche en las razas lecheras (Wood *et al.*, 2003); sin embargo, a partir de la experimentación con grasa de sobrepeso y fuentes ricas en Ácidos Grasos Poliinsaturados (AGPI) y esenciales sobre aspectos reproductivos, las ovejas constituyen un modelo animal ideal para evaluar los AG y su potencial de respuesta reproductiva en rumiantes.

4.2. Fuente de Ácidos Grasos

La suplementación a base de lípidos en los rumiantes ha sido usada en los últimos años para incrementar la concentración de energía en la dieta y disminuir los efectos del balance energético negativo que experimentan los animales alimentados de manera tradicional (Garnsworthy, 2002), especialmente aquellos que son mantenidos

en pastoreo. Una gran variedad de fuentes de grasa han sido utilizadas para la suplementación en ganado bovino bajo condiciones experimentales. Algunas de ellas incluyen grasas vegetales o animales, sebo, grasa amarilla, harina de pescado, grasas hidrogenadas, jabones de calcio, ácidos grasos libres, y semillas de algodón, soya, canola, cacahuete, cártamo, girasol, entre otras (Funston, 2004).

4.3. Técnicas de Fermentación Ruminal

La modificación de los patrones de fermentación ruminal a formas más eficientes motiva la investigación de la dinámica de las poblaciones ruminales, su metabolismo y modelaje. Un ejemplo es el uso de antibióticos ionóforos, que ha tenido gran éxito reduciendo las pérdidas de energía y proteína en el rumen. Sin embargo, el uso de antibióticos enfrenta la opinión pública, y la prohibición en la unión europea desde enero de 2006.

La evaluación de otras alternativas en el control de poblaciones específicas de bacterias es una actividad de interés para los científicos (Calsamiglia *et al.*, 2007). Debido a ello, numerosos trabajos se han dirigido a diversas sustancias que puedan afectar los organismos del rumen, como extractos de vegetales, aceites, bactericidas de origen vegetal. Magaña-Sevilla *et al.*, (2005), encontraron una reducción en la producción de gas *in vitro* sin diferencias en la digestibilidad de la materia orgánica (MO) o materia seca (MS) utilizando aceites saponificados. Sin embargo, en las

pruebas de digestión en lotes como las mencionadas no se logra la adaptación de las bacterias ruminales hasta alrededor de 7 días en condiciones *in vitro* (Cardozo *et al.*, 2004) y se requiere de la determinación del metano en el estudio para definir si la reducción de gas es a expensas de éste.

Una alternativa para el estudio de la digestión de nutrientes y ecología microbiana son los fermentadores de cultivo continuo (Fuchigami *et al.*, 1989) Las ventajas que presenta son costo, tiempo, menor variación entre unidades experimentales y la posibilidad de prescindir de animales fistulados utilizando contenido ruminal de rastro y heces. De manera similar a los métodos *in vivo* se requieren de técnicas confiables para el aislamiento de células microbianas. Los dos métodos más comunes utilizados *in vitro* son los sistemas de tecnología de simulación ruminal (RuSiTec) y sistemas continuos de doble flujo. Una de las diferencias entre la ecología ruminal *in vitro* e *in vivo* es la capacidad del animal de defaunar el rumen, aunque los resultados entre la técnica de doble flujo *in vivo* son similares el 80% de las evaluaciones.

Recientemente Fondevilla y Pérez Espes, (2007) presentaron un método sencillo y económico que permite la producción de gas *in vitro*, operando bajo el esquema de simulador de la función ruminal. La patente puede ser adaptada con matraces aforados de mayor capacidad que los descritos para ser utilizados en fermentaciones a plazos mayores a las 96 h, manteniendo condiciones óptimas para el estudio de microorganismos.

Utilizar sistemas de fermentación continua y cromatografía de gases producidos *in vitro*, puede ser utilizado para definir si la inclusión de aceites saponificados reduce la producción de metano a través del efecto sobre la viabilidad de bacterias metanogénicas, y validarlo para los aceites que se utilizan de manera comercial como el aceite de maíz.

4.4 .Ácidos Grasos e implicaciones a nivel ruminal.

Las grasas libres más utilizadas como suplementos grasos en las raciones de los rumiantes son de origen vegetal (aceite de girasol, soya, palma, maíz, etc) o animal (pescado, sebo de vacuno, manteca de cerdo, mezclas, etc.) las grasas libres, sobre todo las ricas en AGPI de cadena larga, no se pueden utilizar en grandes cantidades por su efecto toxico para ciertas especies de bacterias ruminales, lo que causa un impacto negativo en la digestión ruminal, particularmente sobre la fermentación de fibra (Jenkins, 1996) y tiene efectos negativos sobre el consumo de MS y resultados productivos (Kitessa *et al.*, 2001). Sin embargo, el aporte de lípidos a la ración en forma de grasas protegidas o mediante la incorporación de semillas oleaginosas es una vía para incrementar los AG disponibles para la absorción intestinal sin afectar la flora microbiana ruminal a la par que se evita o reduce la acción de esta sobre los AG. Si los lípidos son accesibles a la microflora del rumen, estos son hidrolizados (más del 80%) liberándose los AG (Doreau y Ferlay, 1994). Tras la hidrolisis de los

lípidos, los AGPI libres sufren un proceso de biohidrogenación para generar moléculas más saturadas (Aldrich *et al.*, 1995; Plascencia *et al.*, 1999). A consecuencia del proceso de hidrolisis y biohidrogenación, los lípidos que pasan al intestino delgado de los rumiantes son predominantemente AG libres (85-90%) mayormente saturados (80-90%), de los que el ácido estearico (C18.0) representa dos tercios y el ácido palmítico el tercio restante (Drackley *et al.*, 2007). Por lo tanto, el principal AG disponible para su absorción intestinal en rumiantes es el ácido estearico. Sin embargo, el ácido oleico es predominante en la musculatura de los rumiantes suponiendo en 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 (Smith *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 AG (Givens *et al.*, 2006).

4.5. Ácidos grasos y su importancia en la reproducción

El uso de grasa en la dieta para influir positivamente en la reproducción de los rumiantes ha despertado el interés de varios investigadores (Staples *et al.*, 1998; Hess, 2003; Funston, 2004). Las investigaciones realizadas sobre la suplementación de grasa han sido encaminadas en vacas de uno o más partos, y en novillas de reemplazo. Las grasas han sido suministradas antes y después del parto. Debido a

que algunos AG son esenciales para los mamíferos y al papel de algunos de éstos AG sobre los procesos reproductivos, es posible que la reproducción del ganado sea influenciada más por el tipo de lípidos consumidos que por el consumo total de grasa. Esto es particularmente importante ya que los rumiantes hidrogenan en el rumen los AGPI, limitando el aporte de AGI de la dieta que serán absorbidos en el intestino delgado (Baldassarre *et al*, 1994; Santos *et al.*, 2008). No obstante, es posible que algunos AGI específicos logren pasar intactos por el rumen y sean absorbidos en el intestino delgado, pudiendo mejorar la eficiencia reproductiva directamente en el tejido blanco del aparato reproductor de la hembra (de manera autocrina o paracrina), o por un efecto indirecto mediado por el sistema endocrino (Staples y Thatcher, 2005). Algunas de las variables de respuesta que han sido estudiadas son: edad a la pubertad, dinámica folicular, intervalo parto ovulación, porcentaje de concepción a primer servicio, porcentaje de preñez, intervalo entre partos, dificultad de parto, entre otros (Fuston, 2004). Para determinar los mecanismos potenciales de acción, los científicos han investigado la dinámica folicular, perfiles y cambios hormonales, función del eje hipotálamo-hipófisis-gónada y desarrollo embrionario (Fuston, 2004). El efecto de la suplementación grasa sobre el comportamiento reproductivo en rumiantes no es totalmente claro. Muchos de los datos publicados provienen de estudios que tienen mayor énfasis en objetivos nutricionales que reproductivos (Funston, 2004). La suplementación grasa en cantidades moderadas normalmente estimula la producción de leche debido a su alta

concentración de energía, pero su impacto en la reproducción es menos consistente (Staples y Thatcher, 2005).

4.5.1. Secreción de hormonas

Cuando los lípidos son incluidos en la dieta de los rumiantes para incrementar la concentración de energía, puede mejorar el balance calórico en el animal e influir por esta u otra vía en la actividad hipofisaria-gonadal durante el periodo posparto (Adamiak *et al.*, 2005). La energía proporcionada por los lípidos suplementarios incrementa la secreción de hormona luteneizante (LH) en animales que han estado consumiendo menos calorías de las requeridas (Sklan *et al.*, 1991). Sin embargo, no se ha definido con claridad algún mecanismo independiente de la energía para tal efecto.

En ovejas, el efecto positivo de la suplementación con grasas y aceites se ha atribuido al aporte energético de los lípidos, especialmente en hembras con balance energético negativo (Mattos *et al.*, 2000). Aunque existen evidencias que señalan que después de la suplementación con grasa aumentan los niveles séricos o foliculares de colesterol, insulina, somatotropina, leptina y AG no esterificados, relacionándose con una mejor respuesta endocrina del eje hipotálamo hipófisis gónada o del desarrollo folicular ovárico, los resultados publicados son variables e inconsistentes al respecto, por lo que la respuesta endocrina en los ovinos a partir de

la suplementación con lípidos no se ha esclarecido totalmente (Wonnacott *et al.*, 2010). Con base en los resultados presentados por Espinoza *et al.* (2008), existe un mayor nivel sérico de insulina en ovejas alimentadas con grasa de bovino en comparación a las alimentadas con granos (2.5 vs 1.7 ng/ml), igualmente la somatotropina aumenta en promedio de manera significativa en las ovejas suplementadas con dicha fuente energética. Sin embargo, estudios realizados en ovejas Pelibuey muestran que aunque con la suplementación de AG aumenta la respuesta ovárica, las concentraciones de FSH e insulina no siempre muestran diferencias importantes entre hembras suplementadas con aceite y las no suplementadas (Herrera *et al.*, 2003).

El colesterol es el principal sustrato para la síntesis de progesterona en el cuerpo lúteo (Childs *et al.*, 2008). De esta manera, la suplementación de AG puede incrementar la concentración de P₄ plasmática (Lopes *et al.*, 2009) y asociarse positivamente con las tasas de preñez ya que dicha hormona regula las secreciones endometriales (Gray *et al.*, 2001) y los cambios en la estructura endometrial que son fundamentales para el desarrollo adecuado del embrión (Wang *et al.*, 2007).

La P₄ y su relación con los AG poliinsaturados es inconsistente. En un estudio se observó un incremento de la producción de P₄ *in vitro*, cuando se cultivaron células de la granulosa de cabras en un medio enriquecido con ácido linoleico, pero no con ácido α -linolénico (Coyral-Castel *et al.*, 2010). Estudios *in vitro* indican que el

metabolismo de la P_4 puede ser inhibido por concentraciones altas de ácido α -linolénico en el medio de cultivo (Piccinato *et al.*, 2010). Si esto ocurre *in vivo*, tal vez se relaciona con que, ciertos AGPI pueden incrementar la concentración sérica de insulina y esta a su vez, reduce la expresión hepática de algunas enzimas del complejo citocromo P450 que catabolizan la P_4 (Lemley *et al.*, 2008). La relación de los AGPI con la síntesis de hormonas esteroideas ha sido explicada con mayor detalle partiendo del efecto del ácido araquidónico en la maquinaria de la esteroidogénesis [proteína reguladora aguda de esteroideas (STAR), citocromo P450.]; o a través de las prostaglandinas (Wathes *et al.*, 2007).

4.5.2. Ácidos grasos y respuestas reproductivas

Diferentes efectos específicos de los ácidos grasos en los tejidos reproductivos han sido demostrados *in vitro e in vivo* en la esteroidogénesis (Wathes *et al.*, 2007), calidad y desarrollo de embriones y calidad de ovocitos (Thangavelu *et al* 2007)

Zeron *et al.*, (2002) examinaron los efectos de los cambios estacionales en la composición de AG de fosfolípidos de líquido folicular, células de la granulosa y ovocitos colectados de vacas lecheras tanto en verano como en invierno. La proporción de ácidos grasos insaturados en los ovocitos y células de la granulosa fue mayor en verano y el porcentaje de ácidos grasos monosaturados y poliinsaturados fue mayor en ovocitos y células de la granulosa en invierno. Además,

se detectaron relaciones entre las concentraciones de AGPI desarrollo embrionario y fertilidad. Las concentraciones de AGPI en el líquido folicular disminuyen en verano asociado con la disminución del desarrollo embrionario y la fertilidad de las vacas. El número de folículos, calidad del ovocitos fueron evaluados en ovejas suplementadas con sales cálcicas de aceite de pescado por 13 semanas, estas presentaron más folículos, mejor calidad de ovocitos y una mayor proporción AGI de cadena larga en plasma y células del cúmulo (Zeron *et al.*, 2002).

Bilby *et al.*, (2005) evaluaron diferentes fuentes de AG en vacas y su influencia en la calidad de los ovocitos y desarrollo folicular en la estación de verano. Los tratamientos fueron: 1) aceite de cártamo, 2) sales cálcicas de ácidos octadecanoico, 3) sales cálcicas de aceite vegetal y 4) aceite de linaza. Ellos encontraron en este estudio, que la fuente de suplementación enriquecida con grasa en diferentes AG omega, afecta el folículo y el tamaño del cuerpo lúteo en vacas lecheras durante el verano. Pero no altera la calidad del ovocito según lo determinado por la subsecuente capacidad para formar un embrión en desarrollo después de la fecundación *in vitro*.

Herrera *et al.*, (2003) adicionó 4 % de aceite de maíz del total de la materia seca de la dieta a ovejas donadoras de embriones por un periodo de 23 días, determinó que la adición de aceite de maíz, rico en AGPI, favoreció el número de cuerpos lúteos,

células colectadas totales y embriones, además incrementó el número de embriones en estado de mórula.

5.- MATERIALES Y METODOS

5.1. Experimento 1. Digestibilidad *in vitro*

El presente estudio se realizó en el laboratorio de Biología de la Universidad del Papaloapan Campus Tuxtepec, ubicada en las coordenadas geográficas. Latitud Norte 18°04'52", Longitud Oeste 96°07'07" y una altura de 20 msnm (INEGI, 2010).

5.1.1. Dieta y tratamientos

Se formularon 4 dietas isocalóricas (8.9 MJ/kg de MS) e isoproteicas (10.5 % PC/ kg de MS), con tres niveles de inclusión de aceite de maíz (0, 3, y 6 %) en base a materia seca. Las dietas fueron formuladas para hembras adultas de 35 kg de peso vivo y una ganancia diaria de peso de 80 g (AFRC, 1993). El forraje base utilizado para este estudio fue *Digitaria decumbens*.

1.- **TA0**: 150 mg de forraje + 100 mg de maíz molido.

2.- **TA3**: 179 mg de forraje +63.mg de maíz molido + 8 mg de aceite de maíz.

3.- **TA6**: 205 mg de forraje + 30 mg de maíz molido + 15 mg de aceite de maíz.

4.- **TA9**: 227.5 mg de forraje + 22.5mg de aceite de maíz.

5.1.2. Preparación del medio

Las dietas fueron incubadas por triplicado en botellas de vidrio en medio de cultivo (Menke and Steingas, 1988) con fluido ruminal en una relación de 70:30 respectivamente. 500 mg de la dieta fue incubada por 24 h (Theodoruo *et al.*, 1994), posterior a este tiempo cada frasco se filtró a través de papel filtro de peso conocido utilizando una bomba de vacío. El líquido restante del proceso de filtrado fue almacenado en frascos de vidrio debidamente tapados e identificados, para su posterior análisis.

5.1.3. Inóculo

El inóculo fue obtenido de líquido ruminal de rastro de la parte medio ventral del rumen de bovino, colocado en un recipiente sellado para protección del aire y transportado al laboratorio, fue filtrado con un colador de malla dentro de un vaso de precipitado, manteniendo el flujo de CO₂, posteriormente se procedió a licuar los sólidos remanentes en la malla en una licuadora, a la cual se le agregó la solución buffer durante 20 segundos a 1.500 rpm; se mantuvo el flujo de CO₂ para evitar la entrada de aire por efecto del licuado. Se filtró nuevamente el líquido obtenido y se adicionó al líquido ruminal filtrado anteriormente. Esta mezcla fue el inóculo que

finalmente se adicionó a cada botella. El inóculo de líquido ruminal se mantuvo bajo CO₂ en una placa de calentamiento a 39 °C, hasta que fué utilizado.

5.1.4. Preparación de las muestras

La preparación de las muestras fue realizada bajo el siguiente orden:

1.- Se pesaron 250 mg de cada tratamiento y se depositaron en un frasco de 120 ml por triplicado perfectamente identificados.

2.- Se adicionaron 2 ml de agua destilada (previamente hervida y enfriada hasta 39°C) a los frascos con las muestras, procurando no agitar el contenido

3.- Se agregaron a los frascos con las muestras 14 ml del medio de cultivo, a una temperatura de 39°C, dejando fluir en los mismos y durante 30 segundos suficiente CO₂, posteriormente fueron tapados y sellados para evitar la entrada de Oxígeno.

4.- Se adicionaron a los frascos con las muestras 4 ml de líquido ruminal, se extrajeron 4 ml de gas CO₂, durante el proceso se procuró un manejo cuidadoso y gentil para evitar en lo posible la adherencia de muestra a las paredes del frasco.

5.1.5. Incubación

Todos los tratamientos fueron incubados por triplicado a 39° C para dar inicio a la digestión microbiana para el tiempo establecido (24 h) en una incubadora. Los tiempos de medición post infusión fueron: 4, 8, 12, 16, 20 y 24 h. en cada botella. El tiempo cero para el cultivo fue cuando las botellas fueron selladas y pinchadas.

5.1.6. Producción de gas *in vitro*

Para medir la presión generada por la producción gas se utilizó una manguera nivelada previamente con solución buffer y adaptado a una jeringa de plástico para medir el volumen de gas (ml).

5.1.7. Filtrado

La solución final de cada botella (después de 24 h) fue filtrado con papel filtro grueso comercial Whatman No. 2, previamente identificado y pesado. Una vez filtradas, las muestras fueron secadas a una temperatura de 60 °C por 12 h, para determinar MS y por diferencia con el material inicialmente incubado calcular la MS degradada.

5.1.8 Análisis estadístico

Los datos fueron analizados mediante un ANOVA de un factor y se les aplicó la prueba de medias Tukey con el programa estadístico SPSS para Windows.

5.2. Experimento 2. Respuesta reproductiva

5.2.1. Localización

El presente trabajo se realizó en una explotación particular en Tuxtpepec Oaxaca, en las coordenadas Latitud Norte 18°04'52" y, Latitud Oeste 96°07'07. Presenta un clima cálido húmedo Af(m); con un régimen pluviométrico de 4,100 mm. anuales y una temperatura media de 25° C (INEGI 2010).

5.2.2. Animales

Se utilizaron 15 ovejas adultas multíparas y secas de la raza Pelibuey, con un peso vivo de 32.7 ± 1.87 kg y una condición corporal de 2.8 ± 0.2 puntos al inicio del experimento en la escala de 1 a 5 según Russel *et al.*, (1969).

5.2.3. Tratamientos

Las ovejas fueron distribuidas al azar en tres tratamientos en base a los resultados del experimento 1 y alimentadas con estas raciones diariamente.

TA0: (n=5), 600 gr de forraje y 400 gr de maíz molido

TA3: (n=5) 720 gr de forraje + 250 gr de maíz molido + 30 gr de aceite de maíz,

TA6 (n=5) 820 gr de forraje +120 gr de aceite de maíz + 60 gr de aceite de maíz.

El aceite de maíz correspondiente a cada tratamiento fue proporcionado vía oral con una jeringa de 100 ml, con la finalidad de asegurar que cada animal consumiera la cantidad de aceite de acuerdo a cada tratamiento.

5.2.4. Sincronización de celos

Para la sincronización de celos, las ovejas recibieron 2 ml de PGF2 α el día 0 (inicio del experimento), una segunda dosis fue aplicada en el día siete, día en el que se inició la detección de los celos durante tres días con la ayuda de un macho entero con mandil, a celo detectado se aplicó una tercera dosis de PGF2 α y se insertaron

esponjas vaginales impregnadas con 20 mg de FGA (Chronogest CR Intervet) durante 12 días.

5.2.5. Determinación de la población folicular y obtención de ovocitos

La determinación de la población folicular y obtención de ovocitos se obtuvo de animales que fueron sacrificados el día 22 del experimento, coincidiendo este momento con el retiro del progestágeno. Los ovarios fueron recuperados y se colocaron en una bolsa de sellado hermético con 200 mL de suero fisiológico (Solución Hartmann, Pisa) y transportados al laboratorio en un recipiente isotérmico para su evaluación. La determinación el tamaño de folículos se realizó con un vernier milimétrico y fueron clasificados en pequeños (2-2.99 mm) medianos (3 a 4.99 mm) y grandes (>5 mm). Los complejo ovocito-cúmulos (COC) fueron aspirados mediante punción.

Se aspiraron todos los folículos ≥ 2 mm con una jeringa de 5cc y aguja de $18 \times 1\frac{1}{2}$ mm. El contenido folicular colectado fue vertido en una caja de Petri de 100 mm y diluido con solución fisiológica para facilitar su evaluación morfológica, la cual se realizó con un microscopio de contrastes de fase (Leica modelo DM300), mediante los criterios del Atlas de reproducción asistida (Patricio, 2003)

5.2.6. Análisis estadístico

Los datos de población folicular fueron transformados logarítmicamente y analizados mediante un ANOVA y se les aplicó la prueba de Tukey. Los datos de calidad ovocitaria se les aplicó una prueba de X^2 , ambas pruebas se corrieron en el programa estadístico SPSS para Windows.

6. RESULTADOS

Experimento 1

En la Tabla 1 se muestran los resultados de la producción de gas acumulado a las 24 h, de acuerdo a los niveles de aceite adicionados en la dieta, se observa una diferencia significativa ($P < 0.05$) entre tratamientos, siendo el TA0 quien presenta una mayor producción de gas, seguido por los tratamientos TA3 y TA6, a excepción de TA9 donde la producción de gas se reduce en un 60% aproximadamente en comparación a los tratamientos mencionados anteriormente.

Tabla 1. Efecto del nivel de aceite de maíz sobre el volumen de gas acumulado *in vitro* a las 24h

Tratamiento	VGA ml
TA0	315 ^a
TA3	268 ^b
TA6	252 ^b
TA9	155 ^c

VGA: Volumen de Gas Acumulado

^{a,b,c}. Literales diferentes entre hileras indican diferencia significativa ($P < 0.05$)

El efecto del nivel de aceite sobre la degradabilidad de la MS de la dieta se observa en la Tabla 2. La DIV es similar entre los tratamientos TA0 y TA3, siendo este parámetro mayor ($P < 0.05$) comparado con los tratamientos TA6 y TA9.

Tabla 2. Efecto del nivel de aceite de maíz sobre la digestibilidad *in vitro* a las 24h

Tratamiento	DIV
TA0	46.55 ^a
TA3	44.50 ^a
TA6	33.25 ^b
TA9	10.75 ^c

DIV: Digestibilidad *in vitro*

^{a,b,c}. Literales diferentes entre hileras indican diferencia significativa ($P < 0.05$)

Experimento 2.

La Tabla 3 presenta los promedios de la población folicular de acuerdo al tamaño (pequeña, mediana y grande), se observa un promedio ligeramente mayor para los folículos pequeños y medianos del grupo TA0 sin embargo, no se encontró diferencia significativa ($P > 0.05$). La población de folículos grandes presenta una diferencia

significativa ($P < 0.05$). a favor del grupo de ovejas que recibieron el 6% de aceite de maíz.

Tabla 3. Población folicular (\pm DE) de ovejas Pelibuey suplementadas con 3 y 6% de aceite de maíz.

Tratamiento	Talla folicular					
	Pequeños (< 3 mm)		Medianos (3 a 4 mm)		Grandes (> 5 mm)	
	Total	Media	Total	Media	Total	Media
TA0	54	10.4 \pm 3.28 ^a	33	6.6 \pm 2.96 ^a	7	1.4 \pm 1.4 ^b
TA3	43	8.6 \pm 3.1 ^a	30	6.0 \pm 1.73 ^a	11	2.2 \pm 1.3 ^b
TA6	49	9.8 \pm 3.42 ^a	26	5.2 \pm 0.83 ^a	18	3.2 \pm 1.6 ^a

^{a,b,c}. Literales diferentes entre hileras indican diferencia significativa ($P < 0.05$)

La Tabla 4 muestra la calidad de los ovocitos para cada grupo de ovejas. Se observa que las ovejas del grupo TA3 presentaron una mayor proporción de ovocitos de calidad excelente y regular en comparación con las ovejas del grupo TA0 y TA6 La

diferencia encontrada fue estadísticamente significativa ($P < 0.05$). Las proporciones de las categorías buena y mala fueron similares entre grupos ($P > 0.05$).

Tabla 4. Calidad de ovocitaria de ovejas Pelibuey suplementadas con 3 y 6% de aceite de maíz.

Tratamiento	Calidad Ovocitaria							
	E	%	B	%	R	%	M	%
TA0	2 ^b	22.22	3 ^a	33.33	1 ^b	11.11	3 ^a	33.33
TA3	5 ^a	38.46	2 ^a	15.38	4 ^a	30.76	2 ^a	15.38
TA6	3 ^b	27.2	3 ^a	27.2	1 ^b	9.0	2 ^a	18.1

E: Excelente, B: Buena, R: Regular M: Mala
^{a,b,c}. Literales diferentes entre hileras indican diferencia significativa ($P < 0.05$)
 E: ovocitos de excelente calidad, B: ovocitos de buena calidad, R: ovocitos de regular calidad, M: ovocitos de Mala calidad

La proporción de folículos lavados y ovocitos recuperados se muestran en la Tabla 5 donde el porcentaje de folículos lavados por grupo se mantuvo alrededor del 40 %; por otro lado, la recuperación se ubicó alrededor del 26 %, siendo ligeramente mayor

en el grupo TA3 (31.70 %) en comparación con los grupos TA0 y TA6 (22.5 y 25.0% respectivamente).

Tabla 5. Proporción de ovocitos recuperados de ovejas Pelibuey suplementadas con el 3 y 6% de aceite de maíz.

Tratamiento	FM	FL	%FL	OR	%OR
TA0	94	40	42.55	9	22.5
TA3	84	41	48.80	13	31.70
TA6	93	44	47.30	11	25.0

FM: Folículos Medidos, **FL:** Folículos Lavados, **%FL,** % de Folículos Lavados, **OR:**Ovocitos Recuperados, **%OR:** % Recuperados
^{a,b,c}. Literales diferentes entre hileras indican diferencia significativa (P<0.05)

7.-DISCUSIÓN

7.1. Experimento 1

La inclusión de grasa en la dieta para aumentar la densidad energética es una alternativa para suplir esta demanda, sin embargo, los altos niveles de grasa en la dieta (> 6% de grasa como porcentaje de la MS) tienen efectos negativos sobre la digestibilidad de la fibra en el rumen, los cuales están asociados con la inhibición de la actividad microbiana, particularmente de los microorganismos celulolíticos y metanogénicos (Devendra y Lewis, 1974) por acción directa de los ácidos grasos en la membrana celular de los microorganismos o por efectos indirectos de una reducción de la disponibilidad de Ca^{2+} y Mg^{2+} (Palmquist, 1991). El uso de grasas insaturadas en dietas para rumiantes tienen un efecto inhibitorio para la acción microbiana ruminal, y perjudican la digestión de nutrientes en el rumen, en especial la fracción fibrosa (Wu *et al.*, 1991; Jenkins, 1996; Palmquist, 1994). Por otra parte, las grasas insaturadas inhiben en mayor grado la digestibilidad de la fibra que las grasas saturadas (Harfoot y Hazlewood, 1988). Boland *et al.*, (2001), reportaron una mayor ($P < 0.05$) digestibilidad de las dietas basadas en pasto henificado cuando adicionaron 0, 3, 6,% de aceite de soya sobre la MS, en un periodo de incubación de 24 hrs, los cuales coinciden con este trabajo donde los niveles de inclusión del 3 y 6% de aceite de maíz no alteran la degradación de MS, ya que la producción de gas en el proceso de digestibilidad *in vitro* permite establecer una relación lineal positiva entre la degradación de la MS y la producción gas durante el proceso fermentativo,

esta relación indica que a mayor degradación del sustrato mayor volumen de gas es producido, sin embargo, si existe mayor producción gas no necesariamente significa una mayor eficiencia por parte de los microorganismos en la utilización del sustrato, de tal forma que dos sustratos de igual degradación la MS pueden producir diferentes volúmenes gas (Posada y Noguera 2005). Bajo las condiciones en las que se desarrolló el presente experimento, esta especie forrajera según la producción acumulada de gas tiene una tasa de digestibilidad inferior al 50%.

7.2. Experimento 2

En el experimento 2 no se encontró diferencia en las categorías de folículos de tamaño pequeño y mediano entre los tratamientos. Sin embargo si se encontró diferencia significativa entre folículos grandes, estos resultados difieren a los encontrados por Fouladi-Nashta *et al*, (2007) quienes encontraron diferencia significativa ($P < 0.001$) en la población de folículos pequeños y medianos en vacas alimentadas con dos niveles de grasa protegida; alto (800 g/animal/día) y bajo (200 g/animal/día) obteniendo los siguientes resultados folículos pequeños (7.1 ± 0.3 vs 6.1 ± 0.3); medianos (9.3 ± 0.4 vs 7.9 ± 0.3) y grandes (0.5 ± 0.14 vs 0.44 ± 0.14), sin embargo, los resultados del presente estudio son similares a los reportados por Herrera *et al*. (2001) quienes no encontraron diferencia entre los folículo de tamaño pequeño (3.06 ± 0.5 vs 3.1 ± 0.4) y mediano (1.1 ± 0.2 vs 0.9 ± 0.2), sin embargo

se reportan diferencia estadística en los folículos de tamaño grande (1.1 ± 0.2 vs 0.5 ± 0.11).

Los datos del presente trabajo coinciden con diversos trabajos que indican que los ácidos grasos poliinsaturados presentes en las grasas vegetales, en especial el ácido linoléico, ejercen un efecto positivo sobre el número y la talla folicular (Mattos *et al.*, 2000, Fuston, 2004, Staples *et al.*, 1998). Tal es el caso reportado por Lammoglia *et al.* (1997) quienes encontraron una tendencia ($P < 0.09$) a incrementarse el promedio de folículos de talla media, esto en vacas suplementadas con 5.2 % de grasa (semilla de algodón, aceite de soya y salvado de arroz) (0.77 vs 0.22), en comparación con el grupo control.

En el presente trabajo las ovejas del grupo TA3 presentaron la mayor proporción de ovocitos con calidad excelente en comparación con TA0, lo anterior coincide con el resultado reportado por Zeron *et al.*, (2002) quienes encontraron un 74.3 % de ovocitos de excelente calidad en ovejas suplementadas con grasas de sobrepaso, comparado con un 54% en las ovejas del grupo testigo ($P < 0.05$).

La proporción de los ovocitos con calidad excelente y regular fue mayor para las ovejas del grupo TA3 (38.46%) comparado con el grupo TA0 (22.22%). La diferencia encontrada entre la calidad ovocitaria entre grupos, pudiera deberse a la acción de la suplementación con aceite de maíz, a través de la acción de los ácidos

grasos poliinsaturados presentes en el aceite, debido a que diversos reportes indican que la suplementación con AGPI esenciales (linoléico principalmente), provocan un efecto positivo sobre diversos procesos reproductivos asociadas con la dinámica folicular (Webb *et al.*, 2004), cabe la posibilidad que estos mismos ácidos grasos poliinsaturados también hayan promovido positivamente la calidad de los ovocitos tal como se encontró en este estudio.

La mejoría en la calidad de los ovocitos, puede deberse a los efectos que ejerce la suplementación grasa que modifican positivamente los precursores de las síntesis de hormonas esteroides y de prostaglandinas, tanto a nivel plasmático como en el líquido folicular, enriqueciendo de esta manera el ambiente folicular necesario para la maduración del ovocito (Cherlyl *et al.*, 2009), y que este efecto se haya presentado en el presente estudio a utilizar el aceite de maíz.

8.- CONCLUSIÓN

La adición de aceite de maíz entre el 3 y 6% en dietas basadas en pasto, no afecta la degradabilidad *in vitro* de materia seca.

La adición del 3% de aceite de maíz en la dieta de ovejas de pelo, no modificó la talla y el número de folículos pequeños y medianos, pero si la población de folículos grandes, mejorando la calidad de los ovocitos recolectados.

9.-LITERATURA CITADA

Adamiak S.J., Mackie K., Watt R.G., Webb R., Sinclair K.D. 2005. Impact of nutrition on oocyte quality: cumulative effects of body composition and diet leading to hyperinsulinemia in cattle. *Biol. Reprod.*; 73:918–926.

AFCR. 1993. Technical Committee on Response to Nutrients. Energy and Protein Requirements of Ruminants. CAB International, Wallingford, UK.

Aldrich C.G., Merchen N.R., Drackley J.K. 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.

Baldassarre H., Castro T.E., Furnus C.C. and de Matos D.G. 1994. In vitro maturation and fertilization of sheep, oocytes collected by laparoscopic folliculocentesis. *Theriogenology* 41:159.

Bas P., Sauvant, D. 2001. Variations de la composition des dépôts lipidiques chez les bovins. *INRA Prod. Anim.*, Vol. 14, p. 311-322.

Bilby T.R., Block J., Filho O., Silvestre F.T., Amaral B.C., Hansen P.J., Staples C.R., Thatcher W.W. 2005. Effect of supplemental fats on oocyte quality and embryo

development in lactating Holstein dairy cows in summer. Biol. Reprod. 140-141. Abstracts.

Boland M.P., Lonergan P., and O'Callaghan D. 2001. Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, and oocyte and embryo development. Theriogenology 55:1323–1340.

Calsamiglia S., Busquet M., Cardozo P.W., Castillejos L. Ferret A. 2007. Invited Review: Essential Oils as Modifiers of rumen Microbial Fermentation J. Dairy Sci. 90:2580-2595.

Cardozo P.W., Calsamiglia S., Ferret A., Kamel C. 2004. Effects of natural plant extracts on ruminal protein degradation and fermentation profiles in continuous culture. J. Anim. Sci., Nov 2004; 82:3230-3236.

Cherly J.A., Luiza M.T., and Morag G.H. 2009. Nutritional effects on oocyte and embryo development in mammals: implications for reproductive efficiency and environmental sustainability. Phil. Trans. R. Soc. B. 364: 3351-3361.

Childs S., Hennessy A.A., Sreenan J.M., Wathes C., Cheng Z., Stanton C., Diskin M.G., Kenny D.A. 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.

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. *Domestic Animals Endocrinology*. 38: 272-283.

Doreau M., and Ferlay A. 1994. Digestion and utilisation of fatty acids by ruminants. *Animal Feed Science and Technology* 45: 379-396.

Drackley J.K., Overton T.R., Ortiz-Gonzalez G., Beaulieu A.D., Barbano D.M., Lynch J.M., Perkins E.G. 2007. Responses to increasing amounts of high-oleic sunflower fatty acids infused into the abomasum of lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 90, 5165-5175.

Espinoza J.L., Palacios A., Ortega R., Guillén A. 2008. Effect of fat supplementation on serum concentrations of progesterone, insulin, growth hormone and some lipid metabolites in Pelibuey ewes. *Archivos de Medicina Veterinaria*. 40:135-140.

Fondevilla M., and Pérez-Espés B. 2007. A new in vitro system to study the effect of liquid phase turnover and pH on microbial fermentation of concentrate diets for ruminants *J. Anim. Feed Sci. Tech.*In press.

Fouladi-Nashta A.A., Gutierrez G.C., Gong G.J., Garnsworthy C.P., and Webb R. 2007. Impact of dietary fatty acids on oocyte quality and development in lactating dairy cows. *Biol reprod.* 77: 9-17.

Fuchigami T., Senshu H., and Horiguchi M. 1989. A simple Continuous Culture System for Rumen Microbial Digestion Study and Effects of Defaunation and Dilution Rates. *J Dairy Sci*, Nov 1989; 72:3070 – 3078.

Funston R.N. 2004. Fat supplementation and reproduction in beef females. *J Anim Sci.* 82:E154-161.

Garnsworthy P.C. 2002. Fats in dairy cow diets. In: *Recent Developments in Ruminant Nutrition*. Edited by Garnsworthy, P.C and Wiseman, J. Nottingham University Press. pp 399-415.

Givens D.I., Kliem K.E., and Gibbs R.A. 2006. The role of meat as a source of n-3 polyunsaturated fatty acids in the human diet. *Meat Sci.* 74, 209-218.

Gray C.A., Taylor K.M., Ramsey W.S., Hill J.R., Bazer F.W., Bartol F.F., Spencer T.E. 2001. Endometrial glands are required for preimplantation conceptus elongation and survival. *Biology of Reproduction.* 64: 1608-1613.

Harfoot C. G., and Hazlewood G.P. 1988. Lipid metabolism in the rumen. In: P.N. Hobson (Ed.) The Rumen Microbial Ecosystem. pp 285-322. Elsevier Applied Science Publishers, London.

Herrera C.J., Quintal F.J.A., Ku V.J.C., Aguayo A.M.M., Williams L.G. 2001. Dinámica folicular y concentración sérica de lípidos en ovejas Pelibuey suplementadas con ácidos grasos poliinsaturados en la dieta. II Congreso Latinoamericano de Especialistas en Pequeños Rumiantes y Camélidos Sudamericanos. XI Congreso Nacional de Producción Ovina.

Herrera C. J., Quintal F. J., Kú V. J., Williams G. L. 2003. Efecto de la adición de ácidos grasos poliinsaturados sobre la dinámica folicular, tasa de gestación y respuesta ovárica en ovejas Pelibuey. Trop. Subtrop. Agroecosystems. 2:101-104.

Hess B.W. 2003. Supplementing fat to the cow herd. Pages 156–165 in Proc. Range Beef Cow Symp. XVIII, Mitchell, NE.

INEGI. 2010. Disponible en www.inegi.com.mx/.../consultas.asp?. Consultada el 28 de noviembre del 2014.

Jenkins T.C., Bateman H.G., and Block S.M. (1996) Butylsoyamide increases unsaturation of fatty acids in plasma and milk of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 79: 585-590.

Kitessa S.M., Gulati S.K., Ashes J.R., Fleck E., Scott T.W., Nichols P.D. 2001. Utilisation of fish oil in ruminants II. Transfer of fish oil fatty acids into goats' milk. *Anim. Feed Sci. Technol.* 89:201-208.

Lammoglia M.A., Willard S.T., Hallford D.M., Randel R.D. 1997. Effects of dietary fat on follicular development and circulating concentrations of lipids, insulin, progesterone, estradiol-17 β , 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F_{2a}, and growth hormone in estrus cyclic Brahman cows. *J. Anim Sci.*;75:1591-1600.

Lemley C.O., Butler S.T., Butler W.R., and Wilson M.E. 2008. Short communication: Insulin alters hepatic progesterone catabolic enzymes cytochrome P450 2C and 3A in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 91: 641-645.

Lopes N., Scarpa A.B., Cappelozza B.I., Cooke R.F., Vasconcelos J.L.M. 2009. Effects of rumen-protected polyunsaturated fatty acid supplementation on reproductive performance of *Bos indicus* beef cows. *J. Anim. Sci.* 87: 3935-3943.

Magaña-Sevilla H., Sandoval-Castro C.A., and Capetillo-Leal C. 2005. Evaluation of fat protection method (Ca-soap) with an in vitro gas production system. In: herbivores.

Mattos R., Staples C.R., and Thatcher W.W. 2000. Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminants. *Rev. Reprod.* 5:38–45.

Menke K. H., and Steingass H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Anim. Research Develop.* 28: 7-55.

Palmquist D. L. 1991. Influence of source and amount of dietary fat on digestibility in lactating cows. *J. Dairy Sci.* 74:1354.

Palmquist D. L. 1994. The role of dietary fats in efficiency of ruminants. *J. Nutr.* 124:1377-1382.

Patricio P., Tucker M.J., y Guelman V. 2003. Atlas de reproducción asistida. Editorial McGraw Hill, México.

Piccinato C.A., Sartori R., Sangsritavong S., Souza A.H., Grummer R.R., Luchini D., Wiltbank M.C. 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 J.A., Torrentera N., and Zinn R.A. 1999. Influence of the.-Agonist, Zilpaterol, on Growth Performance and Carcass Characteristics of Feedlot Steers. Proceedings Western Section Society of Anim Sci. Vol 50: 331-334.

Posada S.L., y Noguera R.R. 2005: Técnica *in vitro* de producción de gases: Una herramienta para la evaluación de alimentos para rumiantes. *Livestock Research for Rural Development*. Vol. 17, Art. #36. Retrieved May 27, 2013, from <http://www.lrrd.org/lrrd17/4/posa17036.html>.

Russel A. J. F., Doney J.M., Gunn R.G. 1969. Subjective assessment of fat in live sheep Journal of Agricultural Science. 72: 451-454.

Santos J.E., Bilby T.R., Thatcher W.W., Staples C.R.M., Silvestre F.T. 2008. Long chain fatty acids of diet as factors influencing reproduction in cattle. *Reprod. Domest. Anim.* 4- 2:23-30.

Sklan D., Moallem U., and Folman Y. 1991. Effect of feeding calcium soaps of fatty acids on production and reproductive responses in high producing lactating cows. *J. Dairy Sci.* 74:510-517.

Smith S.B., Lunt D.K., Chung K.Y., Choi C.V. Tume R.K., Zembayashi M. 2006. Adiposity, fatty acid composition, and delta-9-desaturase activity during growth in beefcattle. *J. Anim. Sci.* 77: 478-486.

Staples C.R., Burke J.M., and Thatcher W.W. 1998. Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. *Journal of Dairy Science* 81 856–871.

Staples C.R., and Thatcher W.W. 2005. Effects of fatty acids on reproduction of dairy cows. In: *Recent Advances in Animal Nutrition*. Edited by P.C. Garnsworthy and J. Wiseman. Nottingham University Press. Nottingham. 11-28.

Thangavelu G., Colazo M.G., Ambrose D.J., Oba M., Okine E.K., Dyck M.K. 2007. Diets enriched in unsaturated fatty acids enhance early embryonic development in lactating Holstein cows. *Theriogenology* 68:949-957.

Theodorou M., Williams B., Dhanoa M., Mcallan A., France J. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminants feeds. *Anim Feed Sci Tech.* 48:185-197.

Wang C.K., Robinson R.S., Flint A.P., Mann G.E. 2007. Quantitative analysis of changes in endometrial gland morphology during the bovine oestrous cycle and their association with progesterone levels. *Reproduction.* 134: 365-371.

Wathes D.C., Abayasekara D.R., and Aitken R.J. 2007. Polyunsaturated fatty acids in male and female reproduction. *Biol. Reprod.* 77: 190-201.

Webb P.C., Garnsworthy J.G., Gong-Armstron D.G. 2004. Control of follicular growth: Local interactions and nutritional influences. *J. Anim. Sci.*82: 63-74.

Weiss M.F., Martz F.A., and Lorenzen C.L. 2004. Conjugated Linoleic Acid: Historical Context and Implications. *Prof Anim Sci.* 20: 118-126.

Wonnacott K.E., Kwong Y.W., Hughes J., Salter A.M., Lea R.G., Garnsworthy P.C., Sinclair K. D., Sinclair K.D. 2010. Dietary omega-3 and -6 polyunsaturated fatty acids affect the composition and development of sheep granulosa cells, oocytes and embryos. *Reproduction.* 139:57-69.

Wood J.D., Richardson R.I., Nute G.R., Fisher A.V., Campo M.M., Kasapidou E., Sheard P.R., Enser M. 2003. Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat Sci.* 66:21-32.

Wu Z., Ohajuruka O.A., and Palmquist D.L. 1991. Ruminal synthesis, biohydrogenation and digestibility of fatty acids by dairy cows. *J. Dairy Sci.* 74:3025-303.

Zeron Y., Sklan D., and Arav A. 2002. Effect of polyunsaturated fatty acid supplementation on biophysical parameters and chilling sensitivity of ewe oocytes. *Molecular Reproduction and Development*. 61:271-268.