

EFFECTO DE LOS ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS SOBRE POBLACIÓN FOLICULAR Y CALIDAD OVOCITARIA EN OVEJAS PELIBUEY

Effect of polyunsaturated fatty acids on follicular population and oocyte quality in Pelibuey sheep

Victor Meza-Villalvazo ✉, Hector Magaña, Carlos Sandoval, Monserrat Morales, Alfonso Chay, Alfredo Trejo

(VMV) Universidad del Papaloapan. Instituto de Biotecnología. Circuito Central No. 200, Col. Parque Industrial. CP. 68301. Tuxtepec, Oaxaca, México

(HM) Instituto Tecnológico de Conkal. Km 16.3 Antigua Carretera Mérida-Motul, Conkal Yucatán México.

(CS) Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Yucatán. Apdo. 4-116 Itzimna, Mérida, Yucatán, México.

(MM) Centro de Bachillerato Tecnológico Forestal No 3, Colonia Obrera Tuxtepec Oaxaca México.

(AC) División Académica de Ciencias Agropecuarias, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Carretera Villahermosa-Teapa, Km 25, R/a. La Huasteca 2ª. Sección, Villahermosa, Tabasco, México

(AT) Universidad del Papaloapan, Avenida Ferrocarril S/N, ciudad universitaria, Loma Bonita Oaxaca.

Artículo recibido: 06 de agosto de 2013 **aceptado:** 30 de octubre de 2013

RESUMEN. Se estudió el efecto de los ácidos grasos poliinsaturados en la dieta de ovejas Pelibuey, en el tamaño de los folículos y la calidad de los ovocitos. Treinta ovejas se colocaron al azar en tres tratamientos, y se alimentaron con una dieta base y 0, 3, 6 % de aceite de maíz, para TA0, TA3 y TA6 respectivamente. Los celos se sincronizaron con tres inyecciones de PGF2 α a intervalos de siete días. La primera aplicación fue el día de inicio del experimento (día 0). Sobre el celo detectado se aplicó la tercera dosis, acompañada de la inserción de una esponja vaginal por 12 días. Los animales se sacrificaron el día 29 del experimento, se midieron los folículos y se clasificaron en pequeños (2 - 2.99 mm), medianos (3 - 4.99 mm) y grandes (> 5 mm). Los complejos ovocito-cúmulos (COCs) se aspiraron mediante punción a partir de folículos \geq 2 mm, clasificándose en excelente, buena, regular y mala calidad. El peso vivo final (PVF), condición corporal final (CCF) y ganancia diaria de peso (GDP) no mostraron diferencias ($P > 0.05$). La media de la población total folicular y folículos grandes fue mayor en TA6 ($P < 0.05$). La proporción de ovocitos de excelente y buena calidad fue mayor ($P < 0.05$) para TA3 y TA6. En conclusión, la adición de ácidos grasos poliinsaturados en la dieta de ovejas Pelibuey no modifica la talla y el número de folículos pequeños y medianos, pero si la población de folículos grandes, mejorando la calidad de los ovocitos recolectados.

Palabras clave: Ácidos grasos poliinsaturados, ovejas Pelibuey, calidad ovocitaria

ABSTRACT. The effect of polyunsaturated fatty acids in the diet of Pelibuey sheep, on follicle size and oocyte quality was evaluated. Thirty sheep were placed randomly in three treatments, and were fed a basal diet and 0, 3, 6 % corn oil, for TA0, TA3 and TA6 respectively. Their estrus was synchronised with three injections of PGF2 α at intervals of seven days. The first injection was given on the first day of the experiment (day 0). When the animals' heat was detected, the third injection was applied, accompanied by the insertion of a vaginal sponge for 12 days. The animals were slaughtered on day 29 of the experiment, the follicles were measured and classified as small (2 - 2.99 mm), medium (3 - 4.99 mm) and large (> 5 mm). The oocyte-cumulus complexes (COCs) were suctioned by puncturing from follicles \geq 2 mm, and were classified as excellent, good, fair and poor quality. The final live weight (FLW), final body condition (FBC) and daily weight gain (DWG) showed no differences ($P > 0.05$). The mean of the total follicular population and large follicles was greater in TA6 ($P < 0.05$). The proportion of oocytes of excellent and good quality was greater ($P < 0.05$) in TA3 and TA6. In conclusion, the addition of polyunsaturated fatty acids to the Pelibuey sheep diet does not alter the size and number of small and medium follicles, but does so in the case of the large follicle population, improving the quality of the collected oocytes.

Key words: Polyunsaturated fatty acids, Pelibuey sheep, oocyte quality.

INTRODUCCIÓN

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). Componentes específicos de la dieta, como la energía pueden influenciar positivamente algunos aspectos reproductivos de la hembra (Fouladi-Nashta *et al.* 2009). En este sentido, se ha demostrado que dietas ricas en ácidos grasos poliinsaturados tienen efectos específicos en diferentes tejidos, con beneficios potenciales sobre la fertilidad, los cuales, parecen ser independientes de la disposición de calorías y cambios en el estado energético del animal (Santos *et al.* 2008). Se han reportado diferentes efectos de los ácidos grasos poliinsaturados en el aspecto reproductivo *in vitro* e *in vivo* en la esteroidogénesis (Hughes *et al.* 2011), metabolismo de las células endometriales (Kirkup *et al.* 2010), calidad ovocitaria y desarrollo de embriones (Sturmey *et al.* 2009). Sin embargo, en el contexto de las investigaciones actuales, los resultados sobre ácidos grasos y su papel como proveedores de energía de los ovocitos y embriones (Sturmey *et al.* 2009) son contradictorios, ya que la composición de ácidos grasos de diferentes fuentes varía en su perfil, por lo que resulta interesante esclarecer como estos cambios ejercen su efecto sobre la calidad de los ovocitos y su repercusión sobre la fertilidad de los animales (Waleed *et al.* 2010; Bender *et al.* 2010). Aunado a lo anterior, en ovinos de pelo bajo condiciones tropicales se han realizado pocos estudios que evalúen el efecto de la suplementación grasa de origen vegetal (Herrera-Camacho *et al.* 2008; Cancino-Arroyo *et al.* 2009).

Con base en lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la adición de diferentes niveles de ácidos grasos poliinsaturados omega 6 en la dieta, sobre el número de folículos y

la calidad de los ovocitos en ovejas Pelibuey.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación

El estudio se realizó en la posta zootécnica de la Universidad del Papaloapan Campus Loma Bonita, Oaxaca. Latitud Norte 95° 53', longitud Oeste 18° 06', altura de 30 msnm y Clima "Am" (INEGI 2010)

Animales, manejo y alimentación

Se utilizaron 30 ovejas adultas multíparas, de la raza Pelibuey, con una condición corporal (CC) al inicio del experimento 2.60 ± 0.30 en la escala uno a cinco (Russel *et al.* 1969) y un peso vivo (PV) de 32.70 ± 1.87 kg. Las ovejas se mantuvieron en estabulación completa por un periodo de 28 d; se distribuyeron al azar en tres tratamientos: tratamiento testigo (TA0, n = 10), 600 g de pasto Pangola + 400 g de maíz molido; tratamiento aceite de maíz al 3 % (TA3, n = 10), 700 g de pasto Pangola + 250 g de maíz molido + 30 g de aceite de maíz; tratamiento aceite de maíz al 6 % (TA6, n = 10) 820 g de pasto Pangola + 120 g de maíz molido + 60 g de aceite de maíz. Las dietas se balancearon de acuerdo al AFCR (1993), procurando que fueran isoenergéticas y que permitiera que los animales ganaran entre 60 y 80 gd^{-1} . La cantidad de aceite correspondiente a cada tratamiento se suministró vía oral con una jeringa, para asegurar que cada animal consumiera la cantidad exacta diariamente. Los animales se pesaron cada siete días, durante la mañana previo a la administración de la dieta, así mismo se registró la condición corporal (CC) inicial y final. El cambio diario de peso (GDP gd^{-1}) se estimó por medio de regresión, considerando la pendiente de la ecuación de regresión como la tasa de cambio de peso de los animales.

Sincronización de celos

Los ciclos estrales se sincronizaron con PGF2 α (Lutalyse, Pfizer®) en el día cero (día del inicio del experimento), la segunda aplicación fue el día siete, en los días ocho y nueve, se detectó celo y a partir de esto el día 14 se aplicó u-

Tabla 1. Peso vivo inicial y final (kg), cambios de peso (gd^{-1}) y condición corporal de ovejas Pelibuey suplementadas con ácidos grasos poliinsaturados.

Table 1. Initial and final live weight (kg), weight changes (gd^{-1}) and body condition of Pelibuey sheep supplemented with polyunsaturated fatty acids.

Variables	Tratamientos			EEM	P
	TAO	TA3	TA6		
Pesos vivo inicial	32.2	32.7	32.2	0.85	0.508
Peso vivo final	33.8	34.2	34.6	0.84	0.661
Ganancia diaria de peso	60.2	53.5	50	6.88	0.558
Condición corporal inicial	2.8	2.5	2.7	0.21	0.375
Condición corporal final	3.2	3.2	3	0.2	0.509

EEM: Error estándar de la media.

a,b Medias con diferente literal entre columnas indican diferencia significativa ($P < 0.05$)

TA0: tratamiento testigo 0 % de aceite de maíz, TA3: tratamiento adicionado con 3 % de aceite de maíz, TA6: tratamiento adicionado con 6 % de aceite de maíz

Tabla 2. Población folicular de ovejas Pelibuey suplementadas con ácidos grasos poliinsaturados.

Table 2. Follicular population in Pelibuey sheep supplemented with polyunsaturated fatty acids.

Variables	Tratamiento			EEM	P
	TAO	TA3	TA6		
Pequeños (2 - 2.9 mm)	2.2	2.5	3.2	0.059	0.122
Medianos (3 - 4.9 mm)	1.2	1.8	1.8	0.045	0.06
Grandes (≥ 5 mm)	1.3a	1.5ab	2.2b	0.051	0.029
Total	4.7a	5.8ab	7.2b	0.038	0.001

EEM: Error estándar de la media.

a,b Medias con diferente literal entre columnas indican diferencia significativa ($P < 0.05$)

TA0: tratamiento testigo 0 % de aceite de maíz, TA3: tratamiento adicionado con 3 % de aceite de maíz, TA6: tratamiento adicionado con 6 % de aceite de maíz

na tercera dosis de prostaglandina acompañada por la inserción de esponjas vaginales impregnadas de FGA (Chronogest CR Intervet) por 12 días.

Determinación de la población folicular y obtención de ovocitos

Para determinar la población folicular y obtención de ovocitos, se detectó la presencia de celo a intervalo de 4 h a partir de las 24 h del retiro de la

esponja hasta las 48 h, cada hembra fue expuesta a un macho con mandil, conforme manifestaban celo se sacrificaron. 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 químico-biológico de la Universidad del Papaloapan en un recipiente isotérmico para su evaluación. La determinación del tamaño de folículos se realizó con un vernier digital (TRUPER, digital estándar y milimétrico Mod. 14388) y se clasificaron en pequeños (2.00 - 2.99 mm) medianos (3.00 - 4.99 mm) y grandes (> 5.00 mm). Los complejos ovocito-cúmulos (COC) fueron aspirados mediante punción a partir de folículos ≥ 2.00 mm con una jeringa de 5 cc y aguja de $18 \times 1\frac{1}{2}$.x. El contenido folicular colectado fue vertido en una caja de Petri de 100 mm y diluido con solución fisiológica para facilitar su evaluación y clasificación, la cual se realizó con un microscopio de contraste de fase (Leica Mod. DM300) Clasificándose en cuatro categorías: excelente: cúmulos compacto (> 4 a 5 capas) con un ooplasma homogéneo; buena: cúmulo compacto de una o dos capas con ooplasma homogénea que tiene una apariencia gruesa; regular: menos cúmulo compacto (ligeramente ampliado cúmulos) con ooplasma irregulares que contienen grupos oscuros; mala: ovocitos desnudos y ooplasmas irregulares (Patricio *et al.* 2003).

Análisis estadístico

Las variables peso vivo final (PVF), condición corporal final (CCF), ganancia diaria de peso (GDP), el tamaño y total de folículos se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA). La calidad de los ovocitos, se analizó mediante una prueba de Chi-cuadrada con el programa estadístico Statistix (1996).

RESULTADOS

El peso de las ovejas al principio y al final del experimento no varió debido al nivel de aceite de maíz en la dieta ($P > 0.05$) entre los tratamientos ya que las dietas se balancearon de manera isoenergética e isoproteica y fueron calculadas para un equilibrio nutricional positivo, lo que permitió a las

Tabla 3. Calidad de ovocitos obtenidos de ovejas Pelibuey suplementadas con ácidos grasos poliinsaturados.

Table 3. Quality of oocytes obtained from Pelibuey sheep supplemented with polyunsaturated fatty acids.

Calidad	Tratamientos					
	TA0		TA3		TA6	
Excelente	9a	-26 %	18b	-43 %	27c	-56 %
Buena	7a	-20 %	13b	-31 %	12b	-25 %
Regular	11a	-31 %	6a	-14 %	5a	-10 %
Mala	8a	-23 %	5a	-12 %	4a	-9 %

EEM: Error estándar de la media.

a,b Medias con diferente literal entre columnas indican diferencia significativa ($P < 0.05$)

TA0: tratamiento testigo 0 % de aceite de maíz, TA3: tratamiento adicionado con 3 % de aceite de maíz, TA6: tratamiento adicionado con 6 % de aceite de maíz

ovejas expresar una ganancia media diaria de peso positiva.

Los datos de población folicular se muestran en la Tabla 1, en la cual se observa que el tamaño promedio de la población total de folículos y folículos grandes es mayor en el grupo TA6 ($P < 0.05$). A pesar presentar un promedio mayor de folículos de tamaño pequeño y mediano los tratamientos TA3 y TA6 no se observó diferencia ($P > 0.05$) con respecto al tratamiento TA0 (Tabla 2).

El total de ovocitos obtenidos en el presente trabajo y clasificados en función de su calidad (Figura 1) se presentan en la Tabla 3. Los tratamientos TA3 y TA6 presentan un porcentaje de ovocitos de excelente y buena calidad del 77.5 % contra un 46 % del tratamiento TA0. Sin embargo, al contrastar únicamente los ovocitos de excelente calidad el TA6 presenta un mayor número (56 %) y una significancia estadística del ($P < 0.05$) en comparación con los tratamientos TA3 (43 %) y TA0 (26 %). En cuanto a los ovocitos con calidad regular y mala los tratamientos no presentan diferencias ($P > 0.05$), pero es importante enfatizar que el TA0 presenta un 54 % en comparación con un 26 % y 19 % de los tratamientos TA3 y TA6, lo que denota una disminución de dichas categorías conforme el nivel de aceite aumenta en la dieta.

DISCUSIÓN

La población folicular, los folículos de tamaño

pequeño (2.00 - 2.99 mm) y grande (≥ 5.00 mm) en el presente estudio concuerdan con lo reportado por Herrera *et al.* (2003) quien al suplementar ovejas Pelibuey con aceite de maíz observaron un mayor número de folículos pequeños (7.50 ± 1.02 vs 6.13 ± 0.80) y grandes (2.28 ± 0.22 vs 1.00 ± 0.13) en ovejas que consumieron el aceite con respecto al testigo.

Los resultados del presente estudio son similares con otros trabajos donde se emplean distintas fuentes de suplementación grasa, teniendo como resultado un aumento constante en el número y tamaño de los folículos ováricos (Oldick *et al.* 1997, Thomas *et al.* 1997, De Fries *et al.* 1998) pero difieren a lo reportado por Herrera-Corredor *et al.* (2010) al alimentar ovejas Pelibuey con aceite de soya encontraron una disminución en el número de folículos pequeños (8.03 ± 0.26 vs 10.15 ± 0.26) en comparación a la dieta control, sin encontrar efecto significativo del aceite sobre folículos grandes (1.36 ± 0.09 vs 1.24 ± 0.09). El incremento de tamaño de folículos preovulatorios puede deberse en parte al incremento de las concentraciones de LH en plasma, el cual estimula la etapa tardía del crecimiento folicular (Mattos *et al.* 2000). Los mecanismos por el cual la suplementación grasa puede estimular la liberación de LH aún no son del todo claros (Staples *et al.* 1998). Sin embargo, puede ejercer su efecto a través de la concentración plasmática de insulina, tras el consumo de grasa se reduce la concentración de insulina en sangre, esto provoca lipólisis y aumento del aporte de ácidos grasos endógenos, el subsecuente ahorro de glucosa para síntesis de grasa aumenta la glucosa disponible para otros tejidos y estimula la producción de insulina que actúa como señal para la estimulación de la liberación de LH (Fuston 2004; Nicholas *et al.* 2005). En este sentido, se requiere mayor investigación en ovinos de regiones tropicales, ya que el uso de ácidos grasos poliinsaturados como suplementación energética no está documentado de forma consistente en la reproducción de ovejas (Herrera *et al.* 2003, Herrera-Camacho *et al.* 2008, Cansino-Arroyo *et al.* 2009, Herrera-Corredor *et al.* 2010)

En el presente trabajo, se muestra evidencia del efecto estimulador de la suplementación del

aceite de maíz sobre la calidad ovocitaria, ya que los tratamientos suplementados con el 3 y 6 % de este aceite presentaron un mayor porcentaje de ovocitos de excelente y buena calidad, lo cual concuerda con lo citado por Zeron *et al.* (2002), al suplementar ovejas con jabones cálcicos de aceite de pescado reportan una mayor calidad ovocitaria, mejor integridad de las membranas del ovocito y un incremento de la proporción de ácidos grasos poliinsaturados en el plasma, líquido folicular y células del cumulus, pero no en los ovocitos, de igual manera McEvoy *et al.* (2012) informa que 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. Sin embargo, los datos del presente estudio difieren a lo reportado por Bilby *et al.* (2006) al evaluar diferentes fuentes de ácidos grasos en vacas y su influencia en la calidad de los ovocitos y desarrollo folicular en la estación de verano, encontrando que la fuente de suplementación enriquecida con diferentes ácidos grasos 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, de igual manera Wonnacott *et al.* (2010) no reportaron diferencia alguna en cuanto a calidad y composición de ácidos grasos de ovocitos provenientes de ovejas alimentadas con 4.5 % de diversas fuentes de aceite (linasa, salmón, girasol) en la ración; sin embargo, la relación de ácidos grasos poliinsaturados n - 3 / n - 6 difiere significativamente entre dietas, la composición lipídica de los ovocitos aún sigue siendo incierta (Sturney *et al.* 2009) y puede estar en función del aporte del tipo de ácidos grasos provenientes de la dieta (Bilby *et al.* 2006). Vaquillas suplementadas con niveles altos de aceite de pescado, incrementaron significativamente el total de ácidos grasos poliinsaturados omega 3 y la relación en el líquido folicular de ácidos grasos omega 3:6 (Childs *et al.* 2008), estos cambios se correlacionan fuertemente con el incremento de los niveles de n-3 en plasma, tales alteraciones del

perfil de ácidos grasos en líquido folicular demuestran su influencia en el desarrollo del ovocito (Webb *et al.* 2003; Waleed *et al.* 2010). Sin embargo, se ha sugerido la existencia de un proceso selectivo de protección, el cual se ha desarrollado para garantizar que la composición de ácidos grasos poliinsaturados del ovocito mantenga un nivel constante para 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 & 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, (Insulin like growth factors) (Armstrong *et al.* 2001, Nicholas *et al.* 2005). La calidad del ovocito maduro in vivo resulta de especial interés, dado que en esta fase, prácticamente se selecciona naturalmente por estos factores (Gonzales *et al.* 2007), 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 (Armstrong *et al.* 2002).

Los resultados en el presente estudio indican que la adición de ácidos grasos poliinsaturados en la dieta de ovejas Pelibuey, no modifica la talla y el número de folículos pequeños y medianos, pero si la población de folículos grandes, mejorando la calidad de los ovocitos recolectados

AGREDECIMIENTO

A el CONACYT por la beca otorgada (98932) para la realización de los estudios doctorales del autor de correspondencia.

A el PROMEP por el otorgamiento de la beca convencional para estudios de posgrado.

LITERATURA CITADA

- AFCR (1993) Technical Committee on Response to Nutrients. Energy and Protein Requirements of Ruminants. CAB International, Wallingford, UK.
- Armstrong DG, Baxter G, Hogg CO, Woad KJ (2002) Insulin-like growth factor (IGF) system in the oocyte and somatic cells of bovine preantral follicles. *Biology of Reproduction* 123: 789-797.
- Armstrong DG, McEvoy TG, Baxter G, Robinsons JJ, Hogg CO, Woad KJ, Webb R (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. *Biology of Reproduction* 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.
- Bilby TR, Jenkins T, Staples CR, Thatcher WW (2006) Pregnancy, bovine somatotropin, and dietary n-3 fatty acids in lactating dairy cows: III Fatty acid distribution. *Journal Dairy Science* 89: 3386-3399.
- Bender K, Walsh S, Evans ACO, Fair T, Brennan L (2010) Metabolite concentrations in follicular fluid may explain differences in fertility between heifers and lactating cows. *Reproduction* 139: 1047-1055.
- Blondin P, Sirrard MA (1995) Oocyte and follicular morphology as determining characteristics for developmental competence in bovine oocytes. *Molecular Reproduction Development* 41: 54-62.
- Cansino-Arroyo G, Herrera-Camacho J, Aké-Lopez R (2009) Tasas de concepción, fertilidad y prolificidad en ovejas de pelo alimentadas con dietas enriquecidas con ácidos grasos poliinsaturados. *Universidad y Ciencia* 25 (1): 181-185.
- Childs S, Hennessy AA, Sreenan JM, Whates DC, Cheng Z, Stanton C, Diskin MG, Kenny DA (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.
- De Fries CA, Neuendorff DA, Randel R.D (1998) Fat supplementation influences postpartum reproductive performance in Brahman cows. *Journal of Animal Science* 76: 864-870.
- Fouladi-Nashta AA, Wonnacott KE, Gutierrez GC, Gong JG, Sinclair KD, Garnsworthy PC, Webb R (2009) Oocyte quality in lactating dairy cows fed on high levels of n-3 and n-6 fatty acids. *Reproduction* 138: 771-781.
- Funston RN (2004) Fat supplementation and reproduction in beef females. *Journal of Animal Science* 82: 154-161.
- 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. *Revista Científica* 17: 77-82.
- Herrera CJ, Quintal FJA, Kú VJC, Williams GL (2003) Efecto de la adición de ácidos grasos poliinsaturados sobre la dinámica folicular, tasa de gestación y respuesta ovárica en ovejas Pelibuey. *Tropical and subtropical agroecosystems* 2: 101-104.
- Herrera-Camacho J, Ake-Lopez R, Ku-Vera JC, Williams GL, Quintal-Franco JA (2008) Respuesta ovulatoria, estado de desarrollo y calidad de embriones de ovejas Pelibuey superovuladas suplementadas con ácidos grasos poliinsaturados. *Técnica Pecuaria México* 46(2): 107-117.
- Herrera-Corredor A, Salazar-Ortiz J, Morales-Terán G, Pro-Martínez A, Gallegos-Sánchez J (2009) 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
- Hughes J, Kwong WY, Li D, Salter MA, Lea RG, Sinclair KD (2011) effects of omega-3 and 6 polyunsaturated fatty acids on ovine follicular cell steroidogenesis, embryo development and molecular markers of fatty acid metabolism. *Reproduction* 141: 105-118.
- INEGI. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (2010) Censo de población y vivienda 2010. Principales resultados por localidad (ITER) www.inegi.org.mx/sistemas/consulta_resultados/iter2010.aspx?c=27329&s=est
- Kirkup SE, Cheng Z, Elmes E, Whates DC, Abayasekara DRE (2010) polyunsaturated fatty acids modulate prostaglandin synthesis by ovine amnion cells in vitro. *Reproduction* 140: 943-951.

- Mattos R, Staples CR, Thatcher WW (2000) Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminants. *Reviews of reproduction* 5: 38-45.
- 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 sera during in vitro culture 21: 31-48.
- Nicholas B, Alberio R, Fouladi-Nashta AA, Webb R (2005) Relationship between low molecular weight insulin like growth factor binding proteins, caspe-3 activity and oocyte quality. *Biology of Reproduction* 72: 796-804.
- Oldick BS, Staples CR, Thatcher WW, Gyawu P (1997) Abomasal infusion of glucose and fat: effect on digestion production, ovarian and uterine function of cows. *Journal of Dairy Science* 80:1315-1328.
- Patricio P, Tucker MJ, Guelman V (2003) *Atlas de reproducción asistida*. Editorial McGraw Hill, México.
- Russel AJF, Doney MJ, Gunn RG (1969) Subjective assessment of fat in live sheep. *Journal of Agricultural Science* 72: 451-454.
- Santos JPG, Bilby TR, Thatcher WW, Staples CR, Silvestre FT (2008) Long chain fatty acids of diet as factors influencing reproduction in cattle. *Reproduction in Domestic Animals* 43: 23-30.
- Staples CR, Burke JM, Thatcher WW (1998) Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. *Journal of Dairy Science* 81: 856-87.
- Statistix for Windows (1996) Analytical software. Tallahassee. FL. 32317-2185.
- Sturney RG, Reis A, Leese HJ, McEvoy TG. (2009) Role of fatty acids in energy provision during oocyte maturation an early embryo development. *Reproduction in Domestic Animals* 44: 50-58.
- Thomas M, Boa GB, Williams GL (1997) Dietary fats varying in their fatty acid composition differentially influence follicular growth in cows fed isoenergetic diets. *Journal of Dairy Science* 75: 2512-2519.
- Waleed FM, Claire-Whates D, Fouladi-Nashta AA (2010) The effect of linoleic acid on bovine oocyte maturation and development. *Reproduction* 13: 979-988.
- Webb R, Nicholas B, Gong JG, Campbell BK, Gutierrez CG, Garverick HA, Armstrong DG (2003) Mechanisms regulating follicular development and selection of the dominant follicle. *Reproduction Supplement* 61: 71-90.
- Wonnacott K, Kwong WY, Hughes, Salter AM, Lea RG, Garnsworthy PC, Sinclair KD (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.
- Zeron Y, Sklan D, Arav A (2002) Effect of polyunsaturated fatty acid supplementation on biophysical parameters and chilling sensivity of ewe oocytes. *Molecular Reproduction Development* 61: 271-278.