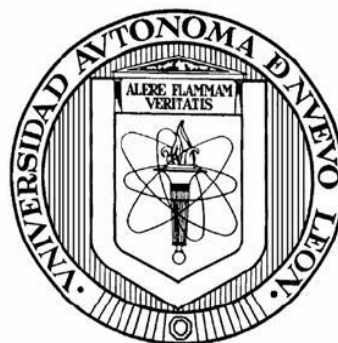


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
FACULTAD DE AGRONOMÍA



SUPLEMENTACIÓN DE TRES FUENTES DE ÁCIDOS GRASOS EN LA
RESPUESTA OVÁRICA Y CALIDAD EMBRIONARIA EN CABRAS
SUPEROVULADAS

Por

BRANDON LUIS GUTIERREZ ZAMORA

Como requisito para obtener el grado de
Maestro en Ciencia Animal

Junio, 2020

SUPLEMENTACIÓN DE TRES FUENTES DE ÁCIDOS GRASOS EN LA
RESPUESTA OVÁRICA Y CALIDAD EMBRIONARIA EN CABRAS
SUPEROVULADAS

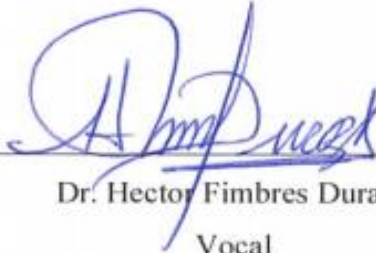
Comité de Tesis



Dr. Jorge Ramsy Kawas Garza
Presidente



Dra. Denisse Garza Hernández
Secretario



Dr. Hector Fimbres Durazo
Vocal

SUPLEMENTACIÓN DE TRES FUENTES DE ÁCIDOS GRASOS EN LA
RESPUESTA OVÁRICA Y CALIDAD EMBRIONARIA EN CABRAS
SUPEROVULADAS

Dirección de Tesis




Dr. Jorge Ramsy Kawas Garza

Director



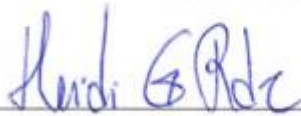
Dr. Miguel Ángel Camacho Aranda

Director externo



Dra. Denisse Garza Hernández

Co-Director



Dra. Heidi G. Rodríguez Ramírez

Co-Director



Dr. Hector Fimbres Durazo

Co-Director

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por la oportunidad de llegar a este momento tan importante en mi vida.

A mi padre José Luis, por ser mi gran ejemplo a seguir y por el apoyo incondicional que me ha brindado toda mi vida.

A mi madre Griselda Zamora, porque por su alta exigencia y su gran amor hoy me convertí en la persona que soy.

A Guadalupe Galindo por haber sido como un padre para mí.

A mis hermanas Briseidy y Fernanda, por siempre estar para mí cuando más las he necesitado.

A Diana Benavides, mi prometida. Por impulsarme a ser mejor cada día y por estar conmigo apoyándome en cada acontecimiento importante.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la manutención brindada estos dos años de estudio.

A MNA de México por los recursos brindados para la realización de este proyecto.

Al Dr. Jorge Kawas por darme la oportunidad de participar en este proyecto de investigación, por sus consejos, dedicación y por todo su apoyo brindado para la realización de este proyecto.

Al Dr. Miguel Camacho y la Dra. Denisse Garza por haber sido mis mentores durante este tiempo, por sus enseñanzas y sobre todo por su comprensión.

A la Dra. Heidi Rodríguez y al Dr. Héctor Fimbres por su invaluable participación en este proyecto.

A todos mis profesores por sus enseñanzas.

Al Rancho Agropecuario Las Palmas y al C.P. Jaime Quintanilla por habernos brindando las instalaciones y los animales necesarios para la realización de este proyecto.

A Leonel Tapia (Tavo) Yarecy Gomez y Jaime Quintanilla Jr. por su amistad, apoyo y colaboración en este proyecto.

DEDICATORIAS

A mis padres, hermanas y a mi prometida.

ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE CUADROS	V
ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS	VI
ÍNDICE DE FIGURAS	VII
LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS	VIII
RESUMEN	IX
ABSTRACT	X
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Técnicas de reproducción asistida	3
2.1.1 Sincronización de estro	3
2.1.2 Superovulación	4
2.2 Nutrición y reproducción	7
2.2.1 Los nutrientes	7
2.2.1.1 Agua	8
2.2.1.2 Energía	8
2.2.1.3 Proteínas	9
2.2.1.4 Vitaminas	10
2.2.1.5 Minerales	10
2.2.2 Aceites y Grasas	11
2.2.2.1 Omegas 3 y 6	11
2.2.2.2 Digestión de lípidos	14
2.2.2.2.1 Lipólisis	14
2.2.2.2.1 Biohidrogenación	14
3. JUSTIFICACIÓN	16
4. HIPÓTESIS	17
5. OBJETIVOS	18
5.1 Objetivo general	18
5.2 Objetivos específicos	18
6. MATERIALES Y MÉTODOS	19

6.1 Ubicación del estudio	19
6.2 Animales experimentales y su manejo	19
6.3 Sincronización de estros y superovulación	19
6.4 Análisis de plasma sanguíneo	21
6.5 Colección de embriones	21
6.6 Análisis estadístico	23
7. RESULTADOS	25
8. DISCUSIÓN	31
9. CONCLUSIÓN	33
10. BIBLIOGRAFÍA	34

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Protocolos de superovulación propuestos por diversos autores.	6
Cuadro 2. Perfil de ácidos grasos (g/100 g) de tres aceites vegetales.	13
Cuadro 3. Fórmulas de los suplementos (kg/ton) y su composición química.	20
Cuadro 4. Respuesta ovárica y calidad embrionaria en cabras superovuladas recibiendo un suplemento adicionado con aceite de linaza (FSO), aceite de soya (SBO), aceite de palma (PSO) o un suplemento sin la adición de aceite (CTL).	26
Cuadro 5. Concentraciones de progesterona (ng/ml) en cabras suplementadas con varios aceites vegetales que varían en su relación de omega-6 y omega-3	27
Cuadro 6. Promedio general de folículos pequeños (3.0-3.9 mm), medianos (4.0-4.9 mm) y grandes (mayor que 4.9 mm) en los diferentes grupos experimentales durante los tratamientos hormonales.	30

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

	Página
Fotografía 1. Plataforma de sujeción	22
Fotografía 2. Material utilizado durante el procedimiento de colección embrionaria.	22
Fotografía 3. Utilización de un tubo Falcon (50 ml) para la recolección del medio de lavado.	24

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Concentración de progesterona (media \pm EE) en cabras en las que se recuperó al menos una estructura (ovocitos/embriones) y en cabras en donde no se recuperó ninguna estructura.	29

LISTA DE SÍMBOLOS Y ABRABIATURAS

AG	Ácidos grasos
AGP	Ácidos grasos poliinsaturados
CIDR	Controlled internal drug release
CTL	Grupo control
eCG	Gonadotropina coriónica equina
EE	Error estándar
FGA	Acetato de fluorogestona
FSH	Hormona folículo estimulante
FSO	Grupo suplementado con aceite de linaza
GnRH	Hormona liberadora de gonadotropina
hCG	Gonadotropina coriónica humana
IETS	International Embryo Technology Society
LH	Hormona luteinizante
MAP	Acetato de medroxiprogesterona
Mg	Miligramos
MHz	Megahertz
n-3	Omega-3
n-6	Omega-6
n-9	Omega-9
PGF _{2α}	Prostaglandina F _{2α}
PSO	Grupo suplementado con aceite de palma
PVP	Polivinilpirrolidona
SBO	Grupo suplementado con aceite de soya
UI	Unidades internacionales

RESUMEN

Los ácidos grasos de la familia de los omegas 3 y 6 han demostrado tener efectos sobre diversos aspectos de la fisiología reproductiva, tales como la síntesis de hormonas reproductivas, desarrollo folicular, número de ovulaciones y calidad embrionaria. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de tres fuentes de ácidos grasos poliinsaturados sobre la respuesta ovárica y la calidad embrionaria en cabras superovuladas. Veinte cabras multíparas de la raza Boer fueron agrupadas en uno de cuatro grupos experimentales para recibir un suplemento con aceite de linaza (FSO), aceite de soya (SBO), aceite de palma (PSO) o un grupo control, sin la adición de aceite (CTL). Las cabras fueron sometidas a un protocolo de sincronización de estros de 7 días mediante el uso de un CIDR. Cuarenta y ocho horas antes del retiro del CIDR, las cabras fueron superovuladas con una dosis total de 80 mg de FSH. El estro fue monitoreado en intervalos de 5 horas, y una vez en estro, las cabras se expusieron a un macho para realizar la monta. La colección de embriones transcervical no quirúrgica se llevó a cabo 7 días después de la última monta. La respuesta al protocolo de sincronización de estros fue exitoso en el 100% de los animales. El intervalo entre el retiro del CIDR y la presencia de estro fue similar entre tratamientos ($P = 0.350$). El número de ovulaciones fue similar entre los grupos ($P = 0.489$). El número de estructuras recuperadas y el número de embriones transferibles fueron mayores en animales que recibieron un suplemento adicionado con aceite de linaza ($P < 0.001$). En conclusión, la adición de aceite de linaza a un suplemento podría incrementar el número de embriones de buena calidad.

ABSTRACT

Omega 3 and 6 fatty acids have been shown to have diverse effects on various aspects of reproductive physiology, such as the synthesis of reproductive hormones, follicular development, number of ovulations and embryo quality. The aim of the present study was to evaluate the effect of three different sources of polyunsaturated fatty acids on ovarian response and embryo quality in superovulated does. Twenty multiparous Boer does were randomly assigned to one of four experimental groups to receive a supplement with flaxseed oil (FSO), soybean oil (SBO), palm oil (PSO) or a control group without oil (CTL). Does were subjected to a 7-day estrus synchronization protocol by means of a CIDR. Superovulation begun 48 hours before CIDR withdrawal, after the IM application of 80 mg of FSH. Estrus was monitored in a 5-hour interval, and once in estrus, does were naturally bred by a male of proven fertility. The transcervical embryo collection was carried out seven days after the last mating. The response to the estrus synchronization protocol was successful in all does. The interval between CIDR withdrawal and the onset of estrus was similar between the treatments ($P = 0.350$). Number of ovulations was similar among treatment groups ($P = 0.489$). The mean number of recovered structures (ova and embryos) and transferable embryos was greater ($P < 0.001$) in does receiving the supplement containing flaxseed oil. In conclusion, adding flaxseed oil to a supplement could increase the number of transferable embryos.

1. INTRODUCCIÓN

La superovulación es una técnica esencial en programas de colección de embriones (Baldassarre & Karatzas, 2004), cuyo objetivo es incrementar el número de ovulaciones y número de ovocitos fertilizados. Esta técnica tiene el potencial de acelerar el mejoramiento genético en el hato al producir más embriones de un solo animal de alto valor genético mediante programas de transferencia embrionaria. Sin embargo, una de sus desventajas es el alto grado de variabilidad en la respuesta ovárica entre animales, lo que resulta en un número impredecible de embriones recolectados, limitando la eficiencia y la rentabilidad de los programas de transferencia embrionaria. El alto grado de variabilidad puede verse influenciado por diversos factores tales como la gonadotropina utilizada y el momento de inicio del tratamiento de superovulación respecto al estatus ovárico (Mapletoft et al., 2002). La raza (Terawaki et al., 2002), nutrición (Callaghan et al., 2000), estación del año (Pintado et al., 1998), fotoperiodo (Mutiga et al., 1984) y tratamientos hormonales repetitivos (Cognie, 1999), son otros factores atribuibles al alto grado de variabilidad en los tratamientos de superovulación. De acuerdo con diversos estudios, los tratamientos de superovulación han sido asociados a anomalías en el desarrollo folicular y del ovocito, afectando el número de embriones viables producidos (Kafi & McGowan, 1997). Estudios anteriores han reportado entre 10 y 76% de embriones transferibles colectados después de un tratamiento de superovulación (Yamamoto et al., 1994; Boland et al., 1991; Staigmiller et al., 1992; Monniaux et al., 1983). No obstante, la superovulación mediante el uso de gonadotropinas exógenas ha sido el tratamiento de elección para inducir ovulaciones múltiples.

La nutrición juega un papel importante para el mantenimiento de las funciones vitales del organismo, tales como la inmunidad, mantenimiento, crecimiento, lactancia y la reproducción (Wu, 2009; Ingvasten & Moyes, 2013). La energía disponible en la dieta está estrechamente relacionada con un correcto funcionamiento de los diferentes procesos reproductivos (Rigolon et al., 2003; Albuquerque et al., 2009). Las grasas son esteres de ácidos grasos y una de las fuentes más importantes de energía para los animales, por lo que pueden contribuir a un óptimo desempeño reproductivo (Martínez et al., 2010). Los ácidos grasos se clasifican en saturados, monoinsaturados y

poliinsaturados. Considerando su estructura química, los ácidos grasos poliinsaturados se dividen en tres familias: Omega-3 (n-3), Omega-6 (n-6) y Omega-9 (n-9). Estos ácidos grasos han demostrado tener diversos efectos benéficos para la salud, ya que son necesarios para diversos procesos, tales como el crecimiento, la visión y el desarrollo cerebral (McCracken et al., 1972). Sin embargo, debido a la falta de enzima desaturasa, los animales no pueden sintetizarlos por lo que deben de ser proporcionados en la dieta (Lands, 1992).

Diversos autores se han enfocado en los efectos de los ácidos grasos de la familia de los omegas 3 y 6 sobre la fisiología reproductiva (Ambrose & Kastelic, 2003; Bindari et al., 2013). Mayor contenido de ácido graso n-3 en la dieta ha sido asociado con una disminución en las concentraciones de $PGF_{2\alpha}$, mientras que mayor contenido de ácido graso n-6 en la dieta se asocian a un aumento en la concentración de dicha hormona (Rodríguez-Cruz et al., 2005; Gulliver et al., 2012). En este contexto, la utilización de fuentes ricas en n-3 podría ser benéfico para prevenir la regresión lútea, manteniendo adecuados niveles de progesterona necesarios para el mantenimiento de la preñez (McCracken et al., 1972). En una serie de estudios se reportó un incremento en los índices de gestación cuando se adicionaron fuentes de n-3 en la dieta (Staples et al., 1998; Ambrose et al., 2006). Por otro lado, dietas con un alto contenido en n-6 fueron asociadas a una mayor incidencia de abortos (Mattos et al., 2000). Además, estudios in vivo e in vitro han reportado efectos benéficos de los ácidos grasos n-3 sobre la maduración del ovocito y supervivencia embrionaria (Zeron et al., 2002; Caldari-Torres et al., 2006; Petit & Twagiramungu, 2006).

2. REVISIÓN DE LITERATURA

Las técnicas de reproducción asistida, tales como la sincronización de estros, inseminación artificial, superovulación y colección de embriones, han sido ampliamente utilizadas para controlar diferentes procesos reproductivos con el objetivo de incrementar la genética del hato. El resultado de la aplicación de estas técnicas dependerá de varios factores, entre ellos el estado nutricional del animal.

2.1 Técnicas de reproducción asistida

2.1.1 Sincronización del estro

El control del ciclo estral mediante el uso de hormonas exógenas es una de las técnicas más utilizadas para sincronizar el estro, con el objetivo de que la monta o la inseminación artificial se lleve a cabo en un tiempo determinado en un grupo de hembras (Baldassarre & Karatzas., 2004). La sincronización de estros es una pieza clave para la implementación de otras biotecnologías reproductivas como la inseminación artificial, superovulación-colección de embriones y a la transferencia embrionaria (Baril & Vallet, 1990; Baril et al., 1993; Baldassarre & Karatzas, 2004). El estro puede ser inducido mediante la administración de prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) o alguno de sus análogos (Douglas & Ginther, 1973; González- Bulnes et al., 2004). El protocolo para sincronizar un grupo de hembras implica la administración de dos inyecciones de $PGF_{2\alpha}$ a intervalos de 12 a 14 días (Greyling & Niekerk., 1986; Kusina et al., 2000). Sin embargo, para que este tratamiento sea efectivo, se requiere la presencia de un cuerpo lúteo funcional al momento de la aplicación de la hormona, por lo que en animales que presentan estacionalidad, dicho tratamiento debe de aplicarse estrictamente durante la época reproductiva (Bretzlaff et al., 1983; Greyling & van Niekerk, 1986). En presencia de un cuerpo lúteo, la primera aplicación de $PGF_{2\alpha}$ inducirá una luteólisis y posteriormente el estro. El intervalo de 12 a 14 días dará suficiente tiempo para la nueva formación de un cuerpo lúteo en todos los animales, permitiendo la sensibilidad por parte del cuerpo lúteo a la segunda aplicación de $PGF_{2\alpha}$.

Uno de los tratamientos comúnmente utilizados para sincronizar el estro es el uso de progestágenos (progesterona o progestágenos sintéticos). Los progestágenos pueden ser administrados vía implantes subcutáneos (Bretzlaff & Madrid, 1985; East

& Rowe, 1989) o mediante dispositivos intravaginales (Wildeus, 2000; Holtz, 2005). El uso de los dispositivos intravaginales impregnados con progesterona natural, tales como el CIDR, o con progestágenos sintéticos como el acetato de fluorogestona (FGA) y el acetato de medroxiprogesterona (MAP), son ampliamente empleados en pequeños rumiantes y han demostrado ser igualmente efectivos para sincronizar el estro (Motlomelo et al., 2002; Romano, 2004; Whitley y Jackson, 2004; Camacho et al., 2019). Algunos autores reportan una respuesta al estro más temprana con el uso del CIDR (Greyling & Brink, 1987; Motlomelo et al 2002), mientras que otros con el uso de esponjas impregnadas con FGA (Romano, 2004). Inicialmente, los dispositivos intravaginales permanecían en el animal por un periodo de 18 a 21 días, periodo suficiente para permitir una luteólisis, independiente de la etapa del ciclo estral en la que se haya comenzado el tratamiento (Baldassarre & Karatzas., 2004; Holtz, 2005). No obstante, los tratamientos largos (18 a 21 días) han sido relacionados con diversas anomalías en el desarrollo folicular y en la función lútea, atribuyendo lo anterior a niveles subluteales del progestágeno hacia el final del tratamiento (Menchaca & Rubianes, 2004). Los tratamientos cortos de 5 a 7 días permiten que los niveles del progestágeno se mantengan altos hacia el final del tratamiento, evitando los problemas ya mencionados (Menchaca & Rubianes, 2001). Tomando en cuenta que las oleadas foliculares en pequeños rumiantes ocurren cada 5 a 7 días (Evans, 2003; Rubianes & Menchaca, 2003), resulta apropiado la reducción de los días de la exposición del progestágeno exógeno. Los tratamientos cortos deben estar acompañados por la aplicación de PGF_{2α} al momento del retiro del dispositivo para asegurar la lisis del cuerpo lúteo (Karaca et al., 2009).

2.1.2 Superovulación

La superovulación es una biotecnología utilizada para inducir un mayor número de ovulaciones y tiene el potencial de acelerar el mejoramiento genético al producir más embriones de un solo animal para fines de transferencia embrionaria. Una superovulación puede ser inducida mediante la administración de gonadotropina coriónica equina (eCG), o bien con la hormona folículo estimulante (FSH) (Baldassarre & Karatzas, 2004). Debido a la larga duración de la eCG en la circulación sanguínea

(4 a 5 días), una sola dosis adecuada de eCG (1000 a 2000 UI) es suficiente para inducir una superovulación (Cognie, 1999), siendo una ventaja para minimizar el manejo de los animales. A diferencia de la eCG, la FSH tiene una duración más corta, de aproximadamente 5 horas (Laster, 1972), por lo que el tratamiento requiere entre 6 y 8 aplicaciones. En el Cuadro 1, se mencionan diversos protocolos de superovulación que han sido propuestos por diversos autores. A pesar de que la eCG ha sido ampliamente utilizada para inducir ovulaciones múltiples (Holtz, 1996; Pintado et al., 1998; Saharrea et al., 1998), la larga duración en la circulación sanguínea promueve un periodo prolongado de estimulación folicular, induciendo la formación de folículos anovulatorios (Cameron et al., 1988). Debido a lo anterior, el régimen de varias aplicaciones de FSH ha sido considerado el tratamiento de elección para inducir una superovulación.

El factor limitante en el uso de la superovulación es el alto grado de variabilidad en la respuesta ovárica, lo que resulta en un número impredecible de embriones recolectados entre animales (Baldassarre, 2007). Dos de los factores principales asociados a esta variabilidad son la gonadotropina utilizada y el estatus ovárico al inicio del tratamiento de superovulación. Diversos estudios han sugerido que el contenido de LH en los productos comerciales de FSH, es el factor responsable de la variación en la respuesta ovárica (Armstrong et al., 1989; Phillips et al., 1993). En un estudio realizado por Puls-Kleingeld et al. (1991), la combinación de FSH con 40% de LH estimuló un mayor número de ovulaciones. La adición de 40% de LH, además contribuyó a la colección de un mayor número de embriones transferibles (Nowshari et al., 1995; Puls-Kleingeld et al., 1991). Estos resultados demuestran el papel importante de la LH en el desarrollo y maduración folicular, ovulación y la calidad embrionaria, como sugerido por diversos autores (Nowshari et al., 1995; Gonzalez-Bulnes et al., 2000, Armstrong & Evans, 1983).

La presencia de folículos dominantes al momento del inicio del tratamiento de superovulación ha demostrado afectar el desarrollo y crecimiento de los demás folículos en desarrollo, disminuyendo el número de ovulaciones (Rubianes et al., 1995). Iniciar el tratamiento de superovulación en la ausencia de folículos dominantes

Cuadro 1. Protocolos de superovulación propuestos por diversos autores.

Protocolo	Referencia
Norgestomet (1.5 mg; 10 d) + 12 mg pFSH suplementada con 40 u 80 % de pLH.	Puls-Kleingeld et al., 1991
MAP (60 mg) + 4 o 12 mg de pFSH combinada con 200 o 400 UI de eCG.	Batt et al., 1993
Norgestomet (1.5 mg; 10 d) + 12 mg pFSH suplementada con 30, 40 o 50 % de pLH.	(Nowshari et al., 1995)
FGA (45 mg; 11d) +750 UI de eCG.	Freitas et al., 1996
FGA (12 d) + 1000 UI de eCG.	Saharrea et al., 1998
FGA (30 mg; 9 d) + 250 UI pFSH disuelta en PVP	D'Alessandro et al., 2001
Dosis única de 30 mg de pFSH mezclado en hidróxido de aluminio en gel.	Kimura et al., 2007
CIDR (0.3 mg; 10, 14, 17, o 21 d) + 70 mg de oFSH + 1000 UI de hCG.	Rahman et al., 2007
Inhibina recombinante ovina subunidad- α (300 μ g).	Padilla et al., 2008
FGA (30 mg; 14 d) + 210 UI pFSH combinada con 500 UI de eCG.	Forcada et al., 2011
Inhibina recombinante ovina subunidad- α (200 μ g) + Norgestomet (1.5 mg; 10 d).	Holtz et al., 2012
CIDR (0.3 mg; 9 d) + 200 mg de pFSH (Folltropin).	Mogase et al., 2016
CIDR (0.3 mg; 7 d) o FGA (20 mg; 7 d) + 12 mg de pFSH (40% LH).	Camacho et al., 2019
CIDR (0.3 mg; 12 d) + 200 mg pFSH (Folltropin V).	Alkan et al., 2020

ha sido un enfoque para evitar dicho efecto. Dentro de los protocolos propuestos se encuentra el denominado “Day 0”, propuesto por Rubianes et al. (1997), lo cual implica iniciar el tratamiento de superovulación al momento de la ovulación (día 0), en ausencia de folículos dominantes. Ayres et al. (2012) propuso iniciar el tratamiento de superovulación al momento del surgimiento la segunda oleada folicular, en la ausencia de folículos dominantes. Dicho tratamiento fue propuesto como una alternativa eficiente al protocolo tradicional de superovulación. La raza (Terawaki et al., 2002), nutrición (Callaghan et al., 2000), estación del año (Pintado et al., 1998), fotoperiodo (Mutiga et al., 1984) y tratamientos hormonales repetitivos (Cognie, 1999) son otros factores atribuibles al alto grado de variabilidad en los tratamientos de superovulación.

Un fenómeno común en cabras superovuladas es la alta incidencia de la regresión prematura del cuerpo lúteo, siendo una de las principales causas de bajas tasas de recuperación embrionaria (Armstrong et al., 1982; Armstrong et al., 1983; Battye et al., 1988). A la fecha no se ha reportado una explicación clara relacionada con este fenómeno. Diversos estudios han sugerido que la manipulación del tracto reproductivo (Riesenberg et al., 2001), la raza (Forcada et al., 2011) y el estatus folicular al inicio del tratamiento de superovulación (Cognie, 1999; Menchaca et al., 2007) como posibles razones de dicho fenómeno. Además, los tratamientos de superovulación han sido asociados a anomalías en el desarrollo folicular y del ovocito, afectando la viabilidad de los embriones en desarrollo (Kafi & McGowan, 1997). En trabajos anteriores, el número de embriones transferibles después de un tratamiento de superovulación se reportó entre 10 y 76% (Yamamoto et al., 1994; Boland et al., 1991; Staigmiller et al., 1992; Monniaux et al., 1983). No obstante, la superovulación mediante el uso de gonadotropinas exógenas es el método más práctico y común para inducir ovulaciones múltiples.

2.2 Nutrición y reproducción

2.2.1 Los nutrientes

La nutrición juega un papel importante en el desempeño reproductivo de los animales, siendo la condición corporal y el balance energético factores relacionados con la función reproductiva en animales.

La alimentación de los caprinos es generalmente basada en forrajes, los cuales cuentan con una cantidad variable de agua, y la fracción de materia seca está compuesta por componentes orgánicos e inorgánicos. Los componentes orgánicos incluyen nutrientes como carbohidratos, proteínas, grasas y vitaminas, mientras que los minerales son componentes inorgánicos. Ambos componentes, tanto orgánicos como inorgánicos, pueden proporcionar nutrientes a los animales para realizar diferentes procesos fisiológicos como su mantenimiento, crecimiento, reproducción, gestación y lactancia (Kawas et al., 2012).

2.2.1.1 Agua

El agua es el nutriente de más alto consumo y puede ser el más crítico de los nutrientes. La vida depende más de este nutriente que de cualquier otro. Una reducida disponibilidad de agua puede restringir el consumo de alimento y la eficiencia alimenticia, y, además, puede afectar el crecimiento, la reproducción y la producción de leche. El agua es responsable de diferentes funciones celulares ya que sirve como solvente para la digestión, absorción, transporte y metabolismo de los nutrientes, y es utilizada para reacciones metabólicas y para la excreción de residuos metabólicos (Kawas et al., 2012). La suplementación nutricional de los caprinos incluye nutrientes como energía, proteína, vitaminas y minerales (NRC, 2007).

2.2.1.2 Energía

La energía es el componente nutrimental requerido en mayores cantidades para las cabras. Los requerimientos de energía dependen del estado fisiológico del animal (mantenimiento, crecimiento, reproducción y lactancia), nivel de producción, actividad, temperatura ambiente y nutrición (nivel de fibra, densidad de la energía y aditivos) (Kawas et al., 2012).

La energía es obtenida mediante la oxidación de nutrientes orgánicos en el cuerpo y es necesaria para llevar a cabo reacciones metabólicas utilizadas en las actividades diarias de la cabra. La principal fuente de energía para los animales son los carbohidratos estructurales que son sometidos a una fermentación ruminal, produciéndose ácidos grasos volátiles como el acético, propiónico y butírico, los cuales

son precursores de la energía (Lu et al., 2005). Sin embargo, la energía también puede ser obtenida de grasas y proteínas, siendo las grasas las más densas en energía (Kawas et al., 2012).

Una práctica común en hembras es el prepararlas para la época reproductiva mediante el incremento de los niveles de energía disponible en el alimento antes del inicio de cualquier programa de reproducción asistida. Un nivel de energía adecuado en la dieta y una condición corporal óptima puede inducir el crecimiento de un mayor número de folículos preovulatorios en respuesta a un tratamiento de superovulación (Albuquerque et al., 2009; Callaghan et al., 2000; Rigolon et al., 2003). Adamiak et al. (2005) estudiaron los efectos de la alimentación sobre factores reproductivos en vaquillas, las cuales habían sido clasificadas de acuerdo con su condición corporal. Ellos concluyeron que la calidad del ovocito depende de la condición corporal del animal, obteniendo una mayor cantidad de ovocitos de buena calidad de aquellos que fueron recolectados de vacas clasificadas como: 3 (buena condición corporal), en escala de 0 (notable emaciación) a 5 (obesa). Un consumo inadecuado de energía puede provocar un retraso en la pubertad, supresión del estro y ovulación, reducción de libido en machos y baja producción de espermatozoides. El consumo excesivo de energía se reflejó en bajas tasas de preñez, abortos y retención placentaria, y un bajo libido en machos (Bearden & Fuquay, 1992; NRC, 2007).

2.2.1.3 Proteínas

Las proteínas son moléculas que contienen nitrógeno y se encuentran en el tejido corporal y en la leche de las cabras. Contienen una o más cadenas de aminoácidos y su calidad se relaciona con su perfil de aminoácidos. Las proteínas son componentes estructurales de las células, sangre, músculos, piel y huesos. Las enzimas, hormonas y anticuerpos también pueden ser proteínas y están implicados en procesos como la digestión y la reproducción (Kawas et al., 2012). Los aminoácidos de las proteínas son necesarios para el mantenimiento corporal del animal, el crecimiento, la gestación y la lactancia. Se ha reportado que uno de los efectos benéficos de la suplementación con proteína ha sido el incremento en la tasa de preñez (Gath et al., 1999).

Un deficiente consumo de proteína puede ocasionar una supresión del estro, bajas tasas de preñez, reabsorción fetal y partos prematuros. Por otro lado, un consumo

excesivo de proteína también ha sido relacionado con bajas tasas de preñez (Bearden & Fuquay; 1992; NRC, 2007).

2.2.1.4 Vitaminas

Las vitaminas, compuestos orgánicos requeridos en pequeñas cantidades para mantener las funciones del cuerpo, participan como cofactores en diferentes procesos metabólicos. Generalmente, las vitaminas A y E son las más consumidas por cabras, y son encontradas en forrajes verdes de buena calidad (Kawas et al., 2012). La vitamina A es requerida para una visión normal y para prevenir problemas respiratorios y reproductivos. Una deficiencia de vitamina A podría causar una alteración de la espermatogénesis, anestro y bajas tasas de preñez (Bearden & Fuquay; 1992; NRC, 2007). De igual forma, se ha reportado que el uso de retinoides como la vitamina A en un tratamiento superovulatorio ha contribuido a un aumento en el número de embriones transferibles (Shaw et al., 1995).

2.2.1.5 Minerales

Los minerales son nutrientes inorgánicos que se clasifican como macrominerales y minerales traza. Los macrominerales son requeridos en las dietas en términos de porcentajes (%) mientras que los microminerales son expresados en partes por millón (ppm) (Kawas et al., 2012).

El cobre, el zinc y el selenio son parte de los denominados microminerales. Una deficiencia de selenio ha sido asociada con retenciones placentarias. Un consumo deficiente de cobre causa una depresión en la reproducción, un sistema inmune deteriorado y alteraciones en las funciones ováricas, y una deficiencia en zinc ocasiona una reducción en la producción espermática (Kawas et al., 2012). También, se ha sugerido que la suplementación con algunos minerales como el magnesio y el potasio en hembras donadoras, tiende a incrementar el número de embriones transferibles (Pereira et al., 2007)

2.2.2 Aceites y grasas

Aunque los carbohidratos sean la principal fuente de energía para los animales, los aceites vegetales y las grasas de origen animal contienen una mayor cantidad de energía (Martínez-Marín et al., 2010). Las grasas son también conocidas como lípidos y están compuestas por ésteres de glicerol y ácidos grasos.

Los ácidos grasos están compuestos de cadenas hidrocarbonadas con dos o más átomos de carbono, con un grupo metilo al inicio y un grupo carboxilo al final de la cadena. Los ácidos grasos se pueden clasificar según su estructura química en saturados (ningún doble enlace a lo largo de su cadena hidrocarbonada), monoinsaturados (un doble enlace presente en su cadena hidrocarbonada) y poliinsaturados (dos o más dobles enlaces a lo largo de su cadena hidrocarbonada) (Marín et al., 2010).

Los ácidos grasos poliinsaturados han demostrado tener diversos efectos benéficos para la salud, ya que son necesarios para diversos procesos, tales como el crecimiento, la visión y el desarrollo cerebral (McCracken et al., 1972). Sin embargo, debido a la falta de la enzima desaturasa, los animales no pueden sintetizarlos (Lands, 1992), por lo que deben de ser proporcionados en la dieta.

2.2.2.1 Omegas 3 y 6

Considerando su estructura química y la posición del primer doble enlace, los ácidos grasos poliinsaturados se dividen en tres familias: Omega-3 (n-3), Omega-6 (n-6) y Omega-9 (n-9). Algunos estudios han mostrado que con la suplementación de ácidos grasos se ha logrado mejorar el desempeño reproductivo de las hembras. Thomas et al., (1997) evaluaron la efectividad del uso de tres fuentes de ácidos grasos: sebo animal (alto en AG saturados), aceite de soya (grasa poliinsaturada) y aceite de pescado (grasa poliinsaturada) en vacas de la raza brahmán. Con el aceite de soya se obtuvo una mayor efectividad, elevando el número de folículos producidos en comparación con los demás aceites. Müller y colaboradores (2009) suplementaron granos de canola como fuente de ácidos grasos esenciales en vaquillas Nellore, reportando un incremento en el número de embriones de buena calidad.

Diversos estudios se han enfocado en los efectos de los ácidos grasos de la familia de omegas 3 y 6 en la fisiología reproductiva (Bindari et al., 2013). Gulliver et al. (2012) reportó que la síntesis de prostaglandinas, así como la síntesis de hormonas esteroideas, fue influenciada por el contenido de omegas 3 y 6 en la dieta. Dietas con un alto contenido en n-6 ocasionó un incremento en la concentración de $\text{PGF}_{2\alpha}$, lo que podría resultar en una regresión del cuerpo lúteo (Mattos et al., 2000). Por otro lado, dietas con un alto contenido de n-3 tienden a inhibir la síntesis de $\text{PGF}_{2\alpha}$, previniendo la regresión del cuerpo lúteo, manteniendo la producción de progesterona (McCracken et al., 1972). En el Cuadro 2, se presenta el perfil de ácidos grasos de los aceites de linaza, soya y coquito de palma. El aceite de linaza y de soya contienen 53.3% y 6.8% de ácido linolénico (C18:3, n-3) respectivamente, mientras que el aceite de palma no contiene dicho ácido graso.

En una serie de estudios, la adición de ácidos grasos omega-3 incremento las tasas de preñez (Staples et al., 1998; Ambrose et al., 2006). Por otro lado, dietas con un alto contenido de ácidos grasos n-6 fueron asociadas a una disminución en la tasa de preñez y a una mayor incidencia de abortos (Mattos et al., 2000). Otros autores (Herrera-Camacho et al., 2008) obtuvieron un incremento significativo en el número de cuerpos lúteos y embriones colectados al suplementar aceite de maíz a ovejas superovuladas de la raza Pelibuey. Así mismo, obtuvieron un incremento en el número de embriones en estado de mórula. Además, estudios *in vivo* e *in vitro* han reportado efectos benéficos de los ácidos grasos n-3 sobre la maduración del ovocito y supervivencia embrionaria (Zeron et al., 2002; Caldari-Torres et al., 2006; Petit & Twagiramungu, 2006)

Cuadro 2. Perfil de ácidos grasos (g/ 100g) de tres aceites vegetales.

Ácido graso	Aceite de linaza	Aceite de palma	Aceite soya
Ácido láurico (C12:0)	0	47.0	0
Ácido mirístico (C14:0)	0	16.4	0.1
Ácido palmítico (C16:0)	5.3	8.1	10.3
Ácido palmitoleico (C16:1)	0	0	0.2
Ácido esteárico (C18:0)	4.1	2.8	3.8
Ácido oleico (C18:1)	20.2	11.4	22.8
Ácido linoleico (C18:2)	12.7	1.6	51
Ácido linolénico (C18:3)	53.3	0	6.8

Fuente: NRC (2008)

2.2.2.2 Digestión de lípidos

2.2.2.2.1 Lipolisis

La microbiota del rumen modifican rápida y ampliamente los lípidos de la dieta durante su permanencia en el rumen (Church, 1993). A nivel ruminal existen dos importantes procesos para absorción de ácidos grasos: la lipolisis y la biohidrogenación. (Church, 1993; Marín et al., 2010; Buccioni et al., 2012).

La degradación de los ácidos grasos (lipolisis) se refiere a la separación del ácido graso de los esteres o grupos funcionales (glicerol, esteroles, etc.), mediante enzimas lipasas, glucolipasas y fosfolipasas (Marín et al., 2010) de origen microbiano (Jenkins, 1993), ubicadas en la superficie de los microorganismos del rumen, los cuales necesitan adherirse a la superficie de los alimentos (Relling & Mattioli, 2003), liberando los ácidos grasos del glicerol (Buccioni et al., 2012).

El glicerol o la galactosa serán metabolizados y convertidos a ácidos grasos volátiles como ácido propiónico y ácido acético, respectivamente, los cuales son absorbidos por la pared ruminal y serán los principales sustratos para la obtención de energía del rumiante (Relling & Mattioli, 2003).

2.2.2.2.1 Biohidrogenación

La biohidrogenación, tiene lugar en el rumen y consiste en la adición de hidrógeno a los ácidos grasos con dobles enlaces de tal manera que se permita su saturación. Es el segundo paso en el metabolismo de lípidos. Para que sea llevada a cabo, es indispensable haber pasado por la lipolisis (Church, 1993).

Los ácidos grasos saturados liberados, no son modificados a nivel ruminal y de manera esterificada suelen pasar a intestino y tejidos, sucesivamente (Marín et al., 2010; Jenkins, 1993). Sin embargo, los ácidos insaturados son rápidamente hidrogenados (Marín et al., 2010).

El ácido linolénico (C18:3, n-3) y linoleico (C18:2, n-6), son ácidos grasos poliinsaturados esenciales en la dieta para producir otros ácidos de las familias n-6 y n-3 (Squires, 2010), además de ser los principales sustratos para la biohidrogenación ruminal (Marín et al., 2010).

La biohidrogenación del ácido linoleico consta de tres pasos (Marín et al., 2010). El primer paso es una isomerización del enlace cis-12 transformándolo a trans-11 (Marín et al., 2010; Jenkins, 1993). Posteriormente una hidrogenación del enlace cis-9 se produce por una enzima reductasa, dando como resultado ácido graso monoinsaturado. Por último, la hidrogenación del enlace 18:1 trans-11, perdiendo su último doble enlace, y dando como resultado ácido esteárico (C 18:0; ácido graso saturado).

A pesar de que el proceso de biohidrogenación limita la disponibilidad de los ácidos grasos poliinsaturados, una pequeña parte de estos logra atravesar el retículo rumen. Algunos investigadores (Herdman et al., 2010) han reportado incrementos significativos en los niveles de EPA y DHA en respuesta a una dieta enriquecida con fuentes de ácido linolénico. Se han realizado esfuerzos para prevenir la saturación de los ácidos grasos poliinsaturados en el rumen mediante la encapsulación de ácidos grasos específicos y la modificación de la estructura del ácido graso formando sales de calcio para que pueda resistir las acciones de las enzimas microbianas, esto con la finalidad de tener una mayor disponibilidad de n-3 a nivel duodenal (NRC, 2007).

3. JUSTIFICACIÓN

La superovulación es una técnica esencial en programas de transferencia de embriones. Sin embargo, la alta variabilidad en la respuesta ovárica y calidad embrionaria entre animales limita la eficiencia de esta técnica. Debido a esto, es necesario implementar estrategias que regulen la respuesta a la superovulación, y, además, mejoren la calidad embrionaria para que los programas de transferencia de embriones sea una práctica y rentable.

4. HIPÓTESIS

La suplementación de aceite de linaza, una fuente de ácidos grasos poliinsaturados con mayor proporción de n-3, mejorará la respuesta ovárica y la calidad embrionaria en cabras superovuladas.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general:

- Evaluar la respuesta ovárica y calidad embrionaria en cabras superovuladas suplementadas con tres aceites que contienen diferentes perfiles de ácidos grasos poliinsaturados.

5.2 Objetivos específicos:

- Evaluar la suplementación de tres aceites vegetales con diferentes perfiles de ácidos grasos poliinsaturados sobre la tasa de ovulación en cabras superovuladas.
- Analizar el efecto de la suplementación de tres aceites vegetales con diferentes perfiles de ácidos grasos poliinsaturados sobre el número y calidad de embriones colectados en cabras superovuladas.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Ubicación de estudio

Este estudio se realizó en el rancho “Agropecuaria Las Palmas”, ubicado en General Zuazua, Nuevo León (25° 53' 47.74'' N, 100° 12' 30.66'' O), durante los meses de invierno (diciembre-enero de 2018).

6.2 Animales experimentales y su mantenimiento

Se utilizaron 21 cabras multíparas de la raza Boer con un promedio de 3 años (EE, 0.18), un peso promedio de 55.5 kg (EE, 2.8) y una condición corporal promedio de 3.5 (EE, 0.21), en escala del 1 a 5 (Hervieu et al., 1991). Los animales fueron agrupados en corrales con una capacidad máxima de 10 animales. Durante el curso del experimento, los animales tuvieron libre acceso a heno de pasto Bermuda NK-37, suplemento mineral y agua. Las cabras fueron asignadas al azar a uno de cuatro grupos experimentales para recibir uno de cuatro suplementos adicionados con aceite de linaza (FSO), aceite de soya (SBO) o aceite de palma (PSO) o un grupo control (CTL), recibiendo un suplemento sin la adición de aceite.

La composición de los respectivos suplementos se presenta en el Cuadro 3. Cada cabra recibió diariamente 300 g del respectivo suplemento desde el día de inicio del protocolo de sincronización de estro hasta el día de la colección embrionaria. Las dietas ofrecidas a cada animal se mantuvieron isoenergéticas e isoprotéicas.

6.3 Sincronización de estros y superovulación

Con la finalidad de tener a todas las hembras en un mismo estado fisiológico reproductivo, las cabras fueron sometidas a un protocolo de sincronización de estros. Para la sincronización, se aplicó de manera intravaginal un dispositivo CIDR (Controlled internal drug release, Pfizer®) impregnado con 0.3 g de progesterona. Los dispositivos permanecieron in situ por 7 días. Para estimular una superovulación, cuarenta y ocho horas antes del retiro del CIDR, las cabras recibieron un total de 80 mg de FSH vía intramuscular (Folltropin V, Vetoquinol®, México) en dosis decrecientes de 20, 20, 15, 25, 5 y 5 mg a intervalos de 12 h. Simultáneamente, con las últimas dos dosis de FSH, se administraron 5 mg de Dinoprost (Lutalyse®, Zoetis) vía

Cuadro 3. Fórmulas de los suplementos y su composición química.

Ingrediente kg/ton	FSO	SBO	PSO	CTL
Ingredientes				
Harina de soya-46	475	475	475	462
Cascarilla de soya	40	40	40	40
Maíz molido	297	297	297	370
Melaza	50	50	50	50
Aceite de soya	0	60	0	0
Aceite de palma	0	0	60	0
Aceite de linaza	60	0	0	0
PM Minerales Caprino	2.5	2.5	2.5	2.5
PM Vitaminas Caprino	2.5	2.5	2.5	2.5
Sal común	25	25	25	25
Carbonato de calcio	10	10	10	10
Fosfato monocalcico-21	38	38	38	38
Composición química				
EM (Mcal/kg)	3.02	3.02	3.02	3.02
Proteína cruda (%)	28.0	28.0	28.0	27.9
FDN (%)	12.6	12.6	12.6	13.1
Calcio (%)	1.32	1.32	1.32	1.32
Fósforo (%)	1.16	1.16	1.16	1.17

intramuscular. El comportamiento sexual de las cabras fue monitoreado diariamente en intervalos de 5 horas para determinar la presencia de signos de estro. Una vez en estro, las cabras fueron cubiertas por monta directa por un macho de fertilidad probada.

La actividad ovárica fue monitoreada diariamente mediante ultrasonografía transrectal (SonoScape[®] S2, equipado con un transductor transrectal, 7.5 MHz) desde la inserción del CIDR hasta el día de la colección de embriones. Los folículos antrales fueron contados y clasificados como pequeños (3.0-3.9 mm), medianos (4.0-4.9 mm) y grandes (> 4.9 mm). La ovulación fue determinada mediante la detección del colapso de folículos grandes entre monitoreos ováricos ultrasonográficos sucesivos, como lo descrito por Suyadi y Holtz (2012). Así mismo, el número de cuerpos lúteos presentes fue registrado al día de la colección embrionaria.

6.4 Análisis de plasma sanguíneo

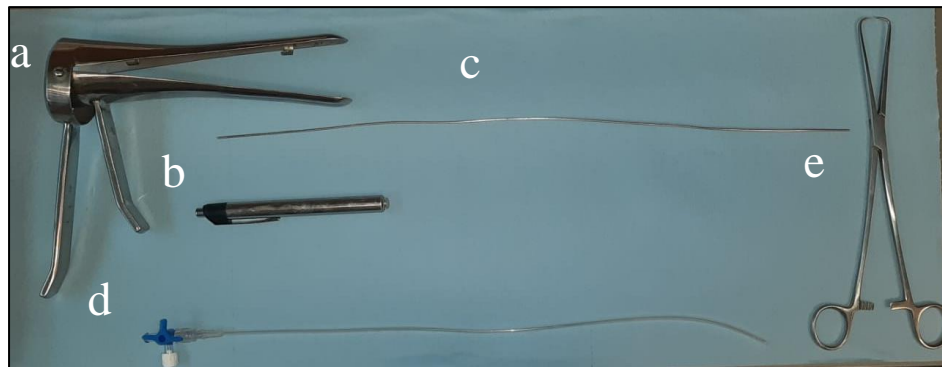
Se colectaron muestras sanguíneas (5 ml) mediante punción de la vena yugular cada dos días a partir del retiro del dispositivo CIDR hasta el día de la colección de embriones. Las muestras fueron centrifugadas a 3,000 g durante 15 minutos y posteriormente almacenadas a -20°C. Las concentraciones de progesterona en el plasma fueron determinadas por medio de ELISA utilizando un kit comercial (EIA1561, DRG) y apegándose a las indicaciones del fabricante.

6.5 Colección de embriones

Siete días posteriores a la última monta, se realizó la colección de embriones vía transcervical, técnica no-quirúrgica descrita por Pereira et al. (1998) y Suyadi et al. (2000). Brevemente, con ayuda de una plataforma de sujeción, el animal permaneció inmovilizado como se muestra en la Fotografía 1. Se introdujo un espejo vaginal, y con ayuda de una fuente de luz se localizó la entrada al cérvix (os cérvix). Una porción del os cérvix fue sujeta utilizando unas pinzas Pozzi de 24 cm (Hergom, Fotografía 2), para posteriormente ser retraído cuidadosamente hacia el orificio vulvar.



Fotografía 1. Plataforma de sujeción



Fotografía 2. Material utilizado durante el procedimiento de colección embrionaria: a) Espéculo vaginal (20 cm de longitud); b) Fuente de luz; c) Estilete (43 cm de longitud); d) Sonda de plástico tipo Nelaton (40 cm de longitud, diámetro externo 3.3 mm); e) Pinzas Pozzi (24 cm de longitud).

Con la ayuda de un estilete flexible, una sonda de plástico tipo Nélaton VISA 10 FR estéril (V-773-10, 40 cm de longitud, diámetro externo 3.3 mm, Laboratorios VISA, S.A. de C.V. México) fue dirigida a través del canal cervical. El estilete fue retirado una vez atravesando el canal cervical. Posteriormente, la sonda fue dirigida hacia uno de los cuernos uterinos con la ayuda de un dedo colocado en el fórnix vaginal. A través del extremo libre de la sonda se realizaron un total de ocho lavados uterinos.

Cada lavado uterino consto de 20 ml de solución Hartmann suplementada con 20% de suero caprino inactivado. Posteriormente, la sonda fue parcialmente retraída hacia el cuerpo uterino y dirigida hacia el otro cuerno, repitiendo el procedimiento. El flujo de cada lavado uterino fue recolectado en tubos cónicos estériles Falcon[®] de 50 ml (Fotografía 3.). El contenido de cada tubo Falcon[®] fue posteriormente decantado en cajas de Petri de 35 milímetros.

El procedimiento se dio por terminado una vez recolectada la totalidad del medio de lavado. Las estructuras recuperadas (ovocitos y embriones) fueron contadas y clasificadas con un estereoscopio a una magnificación de 40x, equipado con una plancha de calentamiento a 37°C. Los embriones fueron clasificados morfológicamente en una escala de 1 (excelente) a 4 (degenerados), según la etapa de desarrollo y la apariencia morfológica de acuerdo con los estándares del manual del International Embryo Technology Society (IETS, Stringfellow and Givens, 2010).

6.6 Análisis estadístico

Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza para un diseño completamente al azar, considerando los efectos del tipo de suplemento (adición de aceite de linaza, aceite de palma, o aceite de soya) sobre las variables a evaluar. Para la comparación de medias se utilizó la prueba Tukey a $P < 0.05$. Para la concentración de progesterona, se realizaron contrastes entre los tratamientos a $P < 0.05$.



Fotografía 3. Utilización de un tubo Falcon (50 ml) para la recolección del medio de lavado.

7. RESULTADOS

Como se muestra en el Cuadro 4, no hubo diferencia ($P > 0.05$) en el tiempo de presentación de signos de estro entre grupos (FSO, 37.0; SBO, 30.0; PSO, 41.0; y CTL, 34 horas) después del retiro del CIDR. El periodo de estro tuvo una duración de 32.0, 35.0, 26.0 y 33.0 horas, sin diferencia significativa entre los grupos ($P > 0.05$). No se observaron diferencias ($P > 0.05$) entre grupos para el intervalo entre el inicio del estro y el momento de la ovulación. El número de ovulaciones, aunque numéricamente más alto en los grupos FSO y SBO (10.0 y 9.2) que en PSO y CTL (6.8 y 6.6), no difirió significativamente ($P > 0.05$).

El número de estructuras recuperadas (ovocitos y embriones) fue significativamente más alta en el grupo FSO en comparación con SBO, PSO y CTL (7.6 vs. 2.0, 0.2 y 0.2; $P < 0.05$). De igual manera, la tasa de recuperación fue más alta en el grupo FSO, reportando un porcentaje del 76% frente a 21, 2.9 y 2.9 %, respectivamente ($P < 0.05$). Referente al número de embriones transferibles (calificación 1 y 2), la media más alta reportada fue para el grupo FSO obteniendo un promedio de 5.1 embriones transferibles por animal ($P < 0.05$), mientras que para SBO, PSO y CTL el promedio por animal fue de 1.6, 0.2 y 0.2, respectivamente.

No se obtuvieron diferencias ($P < 0.05$) entre los grupos para la concentración de progesterona en ningún día de muestreo después del retiro del CIDR. (Cuadro 5). Sin embargo, analizando los datos mediante contrastes (Cuadro 5), se obtuvieron diferencias entre el grupo FSO en comparación con los otros grupos ($P = 0.034$), y entre el grupo FSO y el grupo CTL, sin aceite ($P = 0.046$).

Cuadro 4. Respuesta ovárica y calidad embrionaria en cabras superovuladas recibiendo un suplemento adicionado con aceite de linaza (FSO), aceite de soya (SBO), aceite de palma (PSO) o un suplemento sin la adición de aceite (CTL).

	FSO	SBO	PSO	CTL	P
Cabras	5	5	5	5	
Cabras en estro	5	5	5	5	
CIDR – Estro (h) [*]					
Media	37.0	30.0	41.0	34.0	0.350
EE	1.2	3.1	4.8	1.0	
Duración de estro (h)					
Media	32.0	35.0	26.0	33.0	0.210
EE	2.0	2.8	2.9	3.7	
Estro – Ovulación (h) ^{**}					
Media	46.4	46.0	51.0	62.0	0.170
EE	5.4	4.5	5.4	1.1	
Número de ovulaciones ¹					
Media	10.0	9.2	6.8	6.6	0.489
EE	1.6	1.9	1.0	1.5	
Estructuras recolectadas ²					
Media	7.6 ^a	2.0 ^b	0.2 ^b	0.2 ^b	0.001
EE	2.1	1.3	0.2	0.2	
Embriones transferibles ³					
Media	5.1 ^a	1.6 ^b	0.2 ^b	0.2 ^b	0.001
EE	0.7	2.3	0.3	0.2	
Embriones degenerados					
Media	2.0	0.0	0.0	0.0	0.186
EE	1.5	0.0	0.0	0.0	
Ovocitos infertilizados					
Media	0.6	1.0	0.0	0.0	0.542
EE	0.6	1.0	0.0	0.0	

Filas con letras diferentes difieren significativamente ($P < 0.05$)

* Intervalo (h) transcurrido desde el retiro del CIDR a la presencia de estro.

**Intervalo (h) entre el inicio de la presentación de estro del estro a la ovulación.

¹ Determinado mediante la detección del colapso de folículos grandes entre dos monitoreos ováricos sucesivos.

² Ovocitos y/o embriones.

³ Calidad 1 y 2.

Cuadro 5. Concentraciones de progesterona (ng/ml) en cabras suplementadas con varios aceites vegetales que varían en su relación de omega-3 y omega-6.

Día ¹	Grupos experimentales ^{2,3,4}				EE	P
	FSO	SBO	PSO	CTL		
2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.04	0.877
4	1.4	1.9	4.5	1.8	1.10	0.378
6	9.2	9.6	8.7	5.2	1.93	0.068
8	13.2	9.8	3.8	8,2	4.23	0.509
10	17.1	11.3	3.5	4.5	5.50	0.386

¹Días posteriores al retiro del CIDR.

²FSO, aceite de linaza; SBO, aceite de soya; PSO, aceite de palma; CTL, control.

³Valores con letras diferentes varían significativamente a $P < 0.05$.

⁴Contrastes: FSO vs. SBO, PSO y CTL ($P = 0.034$); SBO vs. FSO, PSO y CTL ($P = 0.349$); PSO vs. FSO, SBO y CTL ($P = 0.072$); CTL vs. FSO, SBO y PSO ($P = 0.240$); FSO vs. CTL ($P = 0.046$).

La Figura 1 ilustra dos patrones diferentes en las concentraciones de progesterona independiente del suplemento ofrecido. Durante los primeros 4 días después del retiro del CIDR, las concentraciones de progesterona fueron similares entre cabras ($P > 0.05$). Posteriormente, las concentraciones se incrementaron a 15.0 ng/ml en el día 6, en once cabras en donde al menos una estructura (ovocitos o embriones) fue colectada ($P < 0.05$). En el transcurso de los días siguientes, la concentración promedio de progesterona de estas cabras se incrementó de manera gradual ($P > 0.05$) para alcanzar una concentración de 19.0 ng/ml al día 10, día de la colección embrionaria ($P > 0.05$). En contraste, no se logró recuperar ninguna estructura (ovocitos o embriones) en el 55% de los animales (3, 4 y 4 cabras en los tratamientos SBO, PSO y CTL, respectivamente). En dichos animales las concentraciones de progesterona a partir del día 6 fueron significativamente más bajas, disminuyendo de 3.0 ng/ml a 0.89 ng/ml, el día de la colección de embriones ($P < 0.05$).

No se registró ninguna diferencia ($P > 0.05$) entre grupos con respecto al número de folículos pequeños, medianos y grandes durante los tratamientos hormonales (Figura 3).

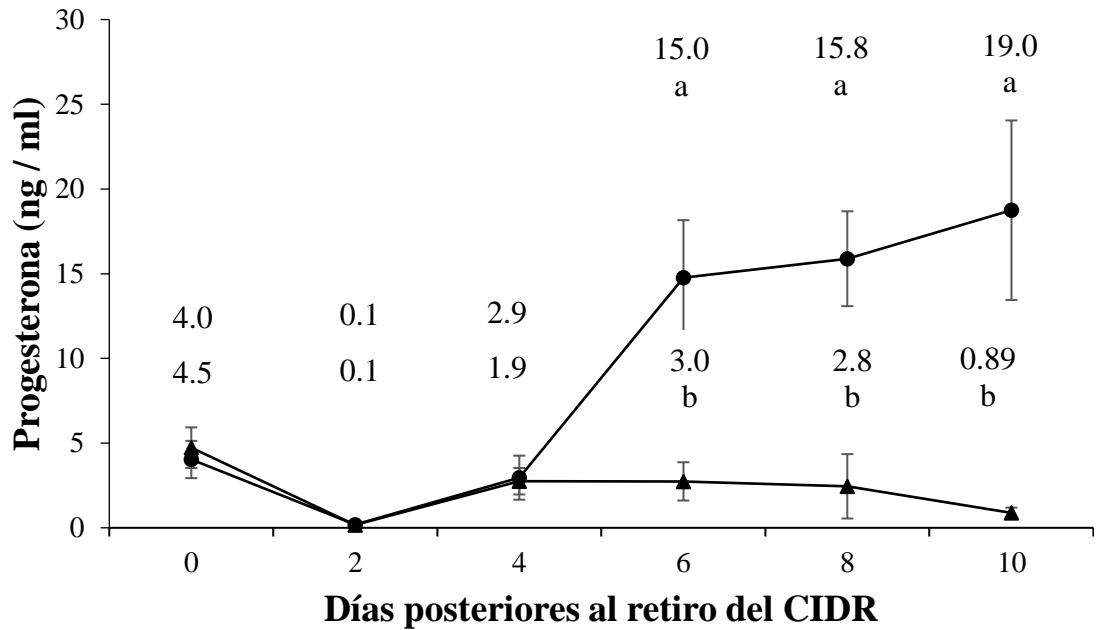


Figura 1. Concentración de progesterona (media \pm EE) en cabras en las que se recuperó al menos una estructura (ovocitos/embriones) (●) y en cabras en donde no se recuperó ninguna estructura (▲). El asterisco denota diferencia significativa entre los dos diferentes patrones de progesterona. Letras diferentes denotan diferencia significativa respecto a los días posteriores al retiro del CIDR ($P < 0.05$).

Cuadro 6. Promedio general de folículos pequeños (3.0-3.9 mm), medianos (4.0-4.9 mm) y grandes (mayor que 4.9 mm) en los diferentes grupos durante los tratamientos hormonales.

Tamaño folicular	Grupos experimentales				EE	P
	FSO	SBO	PSO	CTL		
Pequeños	2.0	2.0	2.0	2.0	0.159	0.940
Mediano	2.1	2.0	2.0	2.0	0.159	0.919
Grandes	3.0	3.1	3.0	3.0	0.208	0.975

8. DISCUSIÓN

En el presente estudio se buscó determinar el efecto de un suplemento adicionado con 6% de aceite de linaza, aceite de soya o aceite de palma sobre la respuesta ovárica y la calidad embrionaria en cabras superovuladas. De acuerdo con diversos estudios, los ácidos grasos de la familia omega 3 y 6 tienen la capacidad de modular la síntesis de hormonas esteroideas y prostaglandinas, afectando de esta manera el inicio del estro. Se ha demostrado que una relación más alta de n-6: n-3 en la dieta promueve la síntesis de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Mattos et al., 2000).

En el presente estudio, las variables a la respuesta del tratamiento de sincronización, presencia de estro, intervalo entre el retiro del CIDR a la presentación del estro, y la duración del estro, no fueron diferentes entre animales recibiendo diferentes aceites vegetales. Estos resultados son comparables a los obtenidos por Oliveira et al. (2016), empleando un tratamiento de sincronización de estros similar, y Zachut et al. (2011), después de la aplicación de $\text{PGF}_{2\alpha}$. En otros estudios, se observó un inicio más temprano del estro en animales postparto suplementados con fuentes de ácidos grasos poliinsaturados (Espinoza et al., 1995; Dirandeh et al., 2013). Debido a que todas las cabras en el presente estudio fueron sometidas al mismo tratamiento hormonal, podemos especular que una vez que la función ovárica es controlada mediante progestágenos y $\text{PGF}_{2\alpha}$, los ácidos grasos podrían ya no jugar un papel importante para alterar los parámetros mencionados. El número similar de folículos pequeños medianos y grandes durante los tratamientos de sincronización y superovulación respalda nuestra especulación. Posiblemente la suplementación de estas fuentes de ácidos grasos excluyendo tratamientos hormonales podría evidenciar los posibles efectos de los ácidos grasos sobre estas variables. Mas estudios, sin embargo, son necesarios para confirmar lo anterior.

Un resultado inquietante en el presente estudio es el bajo número de estructuras recolectadas (ovocitos y/o embriones) en los grupos SBO, PSO, CTL, las cuales no reflejan el número de ovulaciones obtenido. Este resultado es atribuible a que en el 55% de los animales (3 de SBO; 4 de PSO; 4 de CTL) no se lograron recuperar estructuras. Como se mencionó anteriormente, una de las principales limitantes en el

uso de la superovulación es la alta incidencia de una regresión prematura del cuerpo lúteo, siendo la principal causa de bajas tasas de recolección embrionaria. En el presente estudio, la baja concentración de progesterona durante el periodo de muestreo en estos animales, independientemente del suplemento ofrecido, puede ser un indicio de una función lútea comprometida. El procedimiento de colección embrionaria fue realizado por la misma persona durante la duración del estudio, por lo que factores técnicos relacionados con dicha técnica pueden ser descartados. Aunado a esto, la recolección exitosa en el total de los animales del grupo FSO, demuestra que el procedimiento se realizó adecuadamente.

El mayor número de embriones transferibles obtenido en los animales del grupo FSO coincide con los resultados obtenidos por Dutra et al. (2019) suplementando fuentes enriquecidas en n-3. De acuerdo con lo sugerido por McCracken et al. (1972), dietas con un alto contenido de n-3 suprimen la síntesis de $\text{PGF}_{2\alpha}$ previniendo la regresión del cuerpo lúteo y permitiendo una secreción continua de progesterona. La producción adecuada de progesterona durante las primeras etapas de la gestación es crucial para un óptimo desarrollo embrionario. En base a lo anterior, el mayor número de estructuras y de embriones transferibles obtenidos en el grupo recibiendo un suplemento con aceite de linaza (FSO), puede estar relacionado con la mayor proporción de n-3 en dicho aceite. Aunado a esto, a pesar de que las concentraciones plasmáticas de progesterona no difirieron significativamente entre los grupos, los animales pertenecientes al grupo FSO mantuvieron una concentración de progesterona elevada hasta el día de la colección embrionaria en comparación con los demás tratamientos. A diferencia de los resultados obtenidos en este estudio, otros estudios no han reportado un incremento en el número de embriones viables utilizando diversas fuentes enriquecidas como omega-3 y 6 (Bader et al., 2005; Thangavelu et al., 2007; Childs et al., 2008; Petit et al., 2008). Diversos aspectos como, el tipo de ácido graso ofrecido, la cantidad y la relación n-6: n-3, el tiempo específico y la duración de la suplementación, pueden ser factores que contribuyen a la diferencia en resultados entre los diferentes estudios.

9. CONCLUSIÓN

En base a los resultados obtenidos se puede concluir que la adición de aceite de linaza a un suplemento es una estrategia viable para incrementar el número de embriones transferibles en cabras superovuladas. Aunado a esto, este aceite puede evitar la incidencia de una regresión prematura del cuerpo lúteo en cabras sometidas a un tratamiento de superovulación. Sin embargo, más estudios son necesarios para confirmar lo anterior.

10. BIBLIOGRAFÍA

- 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. *Biology of Reproduction* 73: 918-926.
- Adams GP. 1999. Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. *Journal of Reproduction and Fertility* 54: 17-32.
- Albuquerque KP, Prado IND, Cavalieri FLB, Rigolon LP, Prado RMD, Rotta PP. 2009. Fatty acid composition in blood plasma and follicular liquid in cows supplemented with linseed or canola grains. *Asian-Australasian Journal of Animal Science* 22: 1248-1255.
- Alkan KK, Alkan H, Kaymaz M. 2020. The effect of anti-müllerian hormone and progesterone concentrations on superovulation response and embryo yield in goats. *Theriogenology* 143: 1-9.
- Allen WR, Moor RM. 1972. The origin of the equine endometrial cups. I. Production of PMSG by fetal trophoblast cells. *Journal of Reproduction and Fertility* 29: 313-316.
- Ambrose DJ, Kastelic JP, Corbett R, Pitney PA, Petit HV, Small JA, Zalkovic P. 2006. Lower pregnancy losses in lactating dairy cows fed a diet enriched in α -linolenic acid. *Journal of Dairy Science* 89: 3066-3074.
- Ambrose DJ, Kastelic JP. 2003. Dietary fatty acids and dairy cow fertility. *Advances in Dairy Technology* 15: 35.
- Armstrong DT, Evans G. 1983. Factors influencing success of embryo transfer in sheep and goats. *Theriogenology* 19: 31-42.
- Armstrong DT, Pfitzner AP, Porter KJ, Warnes GM, Janson PO, Seamark RF. 1982. Ovarian responses of anoestrous goats to stimulation with pregnant mare serum gonadotrophin. *Animal Reproduction Science* 5: 15-23.
- Armstrong DT, Pfitzner AP, Warnes GM, Seamark RF. 1983. Superovulation treatments and embryo transfer in Angora goats. *Journal of Reproduction and Fertility* 67: 403-410.

- Armstrong DT, Siuda A, Opavsky MA, Chandrasekhar Y. 1989. Bimodal effects of luteinizing hormone and role of androgens in modifying superovulatory responses of rats to infusion with purified porcine follicle-stimulating hormone. *Biology of Reproduction* 40: 54-62.
- Ayres SL, Gavin W, Memili E, Behboodi E. 2012. Superovulation in goats during the second follicular wave, with or without exogenous progesterone. *Small Ruminant Research* 104: 146-150.
- Bader JF, Kojima, FN, Wehrman ME, Lindsey BR, Kerley MS, Patterson DJ. 2005. Effects of prepartum lipid supplementation on FSH superstimulation and transferable embryo recovery in multiparous beef cows. *Animal Reproduction Science* 85: 61-70.
- Baldassarre H, Karatzas CN. 2004. Advanced assisted reproduction technologies (ART) in goats. *Animal Reproduction Science* 82: 255-266.
- Baldassarre H. 2007. Reproducción asistida en la especie caprina: inseminación artificial a clonación. *Revista Brasileira Reprodução Animal* 31: 274-282.
- Baril G, Leboeuf B, Saumande, J, 1993. Synchronization of estrus in goats: the relationship between time of occurrence of estrus and fertility following artificial insemination. *Theriogenology* 40: 621-628.
- Baril G, Vallet JC, 1990. Time of ovulation in dairy goats induced to superovulated with porcine follicle stimulating hormone during and out of the breeding season. *Theriogenology* 34: 303-311.
- Batt PA, Killeen ID, Cameron AW. 1993. Use of single or multiple injections of FSH in embryo collection programmes in goats. *Reproduction, Fertility and Development* 5: 49-56.
- Battye KM, Fairclough RJ, Cameron AWN, Trounson AO. 1988. Evidence for prostaglandin involvement in early luteal regression of the superovulated nanny goat (*Capra hircus*). *Journal of Reproduction and Fertility* 84: 425-430.
- Bearden HJ, Fuquay JW. 1992. Nutritional Management. In *Applied Animal Reproduction* Prentice Hall, NJ; USA, pp. 283-292.

- Bindari YR, Shrestha S, Shrestha N, Gaire TN. 2013. Effects of nutrition on reproduction-A review. *Advances in Applied Science Research* 4: 421-429.
- Boland MP, Goulding D, Roche JF. 1991. Alternative gonadotrophins for superovulation in cattle. *Theriogenology* 35: 5-17.
- Boland MP, Lonergan P, O'callaghan D. 2001. Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, and oocyte and embryo development. *Theriogenology* 55:1323-1340.
- Bretzlaff KN, Hill A, Ott RS, 1983. Induction of luteolysis in goats with prostaglandin F₂ alpha. *American Journal of Veterinary Research* 44:1162-1164.
- Bretzlaff KN, Madrid N. 1985. Synchronization of estrus and fertility in goats with norgestomet ear implants. *Theriogenology* 24: 351-357.
- Buccioni A, Decandia M, Minieri S, Molle G, Cabiddu A. 2012. Lipid metabolism in the rumen: New insights on lipolysis and biohydrogenation with an emphasis on the role of endogenous plant factors. *Animal Feed Science and Technology* 174: 1-25.
- Caldari-Torres C, Rodriguez-Sallaberry C, Greene ES, Badinga L. 2006. Differential effects of n-3 and n-6 fatty acids on prostaglandin F₂α production by bovine endometrial cells. *Journal of Dairy Science* 89: 971-977.
- Camacho JH, López JRA, Vera JCK, Williams GL, Franco JAQ. 2008. Respuesta ovulatoria, estado de desarrollo y calidad de embriones de ovejas Pelibuey superovuladas suplementadas con ácidos grasos poliinsaturados. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 46:107-117.
- Camacho M, Garza D, Gaulty M, Holtz W. 2019. Superovulation of Boer goats with different synchronization regimens at different times of the year in the northern temperate zone. *Small Ruminant Research* 177: 106-110.
- Cameron AW, Battye KM, Trounson AO. 1988. Time of ovulation in goats (*Capra hircus*) induced to superovulate with PMSG. *Journal of Reproduction and Fertility* 83: 747-752.
- Childs S, Carter F, Lynch CO, Sreenan JM, Lonergan P, Hennessy AA, Kenny DA. 2008. Embryo yield and quality following dietary supplementation of beef

- heifers with n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA). *Theriogenology* 70: 992-1003.
- Church, DC. 1993. *El rumiante: fisiología digestiva y nutrición de los rumiantes*. Zaragoza, España: Editorial Acribia.
- Cognie Y. 1999. State of the art in sheep-goat embryo transfer. *Theriogenology* 51: 105-116.
- D'Alessandro AG, Martemucci G, Colonna MA, Borghese A, Terzano MG, Bellitti A. 2001. Superovulation in ewes by a single injection of pFSH dissolved in polyvinylpyrrolidone (PVP): effects of PVP molecular weight, concentration and schedule of treatment. *Animal Reproduction Science* 65: 255-264.
- Dirandeh E, Towhidi A, Ansari Pirsaraei Z, Adib Hashemi F, Ganjkanlou M, Zeinoaldini S, Rezaei Roodbari A, Saberifar T, Petit HV. 2013. Plasma concentrations of PGFM and uterine and ovarian responses in early lactation dairy cows fed omega-3 and omega-6 fatty acids. *Theriogenology* 80:131-137.
- Douglas RH, Ginther OJ. 1973. Luteolysis following a single injection of PGF_{2α} in sheep. *Journal of Animal Science* 37: 990-993.
- Dutra PA, Pinto LFB, Neto BC, Gobikrushanth M, Barbosa AM, Barbosa LP. 2019. Flaxseed improves embryo production in Boer goats. *Theriogenology* 127: 26-31.
- East NE, Rowe JD. 1989. Subcutaneous progestin implants versus intravaginal sponges for dairy goat estrus synchronization during the transitional period. *Theriogenology* 32: 921-928.
- Espinoza JL, Ramirez-Godinez JA, Jimenez JA, Flores A. 1995. Effects of calcium soaps of fatty acids on postpartum reproductive activity in beef cows and growth of calves. *Journal of Animal Science* 73: 2888-2892.
- Evans ACO. 2003. Characteristics of ovarian follicle development in domestic animals. *Reproduction in Domestic Animals* 38: 240-246.
- Forcada F, Ait Amer-Meziane M, Abecia JA, Maurel MC, Cebrián-Pérez JA, Muiño-Blanco, T, Asenjo B, Vázquez MI, Casao A. 2011. Repeated superovulation

- using a simplified FSH/eCG treatment for in vivo embryo production in sheep. *Theriogenology* 75: 769-776.
- Freitas VJV, Baril G, Saumande J. 1996. Induction and synchronisation of oestrus in goats: the relative efficiency of one versus two fluorogestone acetate-impregnated vaginal sponges. *Theriogenology* 46: 1251-1256.
- Gath V, Lonergan P, Boland MP, O'Callaghan D. 1999. Effects of diet type on establishment of pregnancy and embryo development in beef heifers. *Theriogenology* 51: 224.
- González-Bulnes A, Souza CJ, Campbell BK, Baird DT. 2004. Systemic and intraovarian effects of dominant follicles on ovine follicular growth. *Animal Reproduction Science* 84: 107-119.
- Greyling JPC, Brink WCJ. 1987. Synchronization of oestrus in sheep: the use of controlled internal drug release (CIDR) dispenser. *South African Journal of Animal Science* 17: 128-132.
- Greyling JPC, Van Niekerk CH. 1986. Synchronization of oestrus in the Boer goat doe: Dose effect of prostaglandin in the double injection regime. *Journal of Animal Science* 16: 146-150.
- Gulliver CE, Friend MA, King BJ, Clayton EH. 2012. The role of omega-3 polyunsaturated fatty acids in reproduction of sheep and cattle. *Animal Reproduction Science* 131: 9-22.
- Holtz W, Wang X, El-Gayar M, Knight PG. 2012. The effect of exogenous gonadotropins on ovarian function in goats actively immunized against inhibin. *Theriogenology* 77: 253-259.
- Holtz W. 1996. Embryo transfer in goats – a review (in German). *Deutsche tierärztliche Wochenschrift* 103: 293-297.
- Holtz W. 2005. Recent developments in assisted reproduction in goats. *Small Ruminant Research* 60: 95-110.
- Jenkins TC. 1993. Lipid metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Science* 76: 3851-3863.
- Kafi M, McGowan MR. 1997. Factors associated with variation in the superovulatory response of cattle. *Animal Reproduction Science* 48: 137-157.

- Karaca F, Ataman MB, Çoyan K. 2009. Synchronization of estrus with short- and longterm progestagen treatments and the use of GnRH prior to short-term progestagen treatment in ewes. *Small Ruminant Research* 81: 185-188.
- Kawas JR, Mahgoub O, Lu CD. Nutrition of the meat goat. In *Goat Meat Production and Quality*, Mahgoub O, Kadim IT, Webb EC. CABI: Cambridge, pp. 161-195.
- Kimura K, Hirako M, Iwata H, Aoki M, Kawaguchi M, Seki M. 2007. Successful superovulation of cattle by a single administration of FSH in aluminum hydroxide gel. *Theriogenology* 68: 633-639.
- Kusina NT, Tarwirei Hamudikuwanda H, Agumba G, Mukwena J, 2000. A comparison of the effects of progesterone sponges and ear implants, PGF₂alpha, and their combination on efficacy of estrus synchronization and fertility of Mashona goat does. *Theriogenology* 53: 1567-1580.
- Laster DB. 1972. Disappearance and uptake of FSH in the rat, rabbit, ewe and cow. *Journal of Reproduction and Fertility* 30: 407-415.
- Lu CD, Kawas JR, Mahgoub OG. 2005. Fibre digestion and utilization in goats. *Small Ruminant Research* 60: 45-52.
- Mapletoft RJ, Steward KB, Adams GP. 2002. Recent advances in the superovulation in cattle. *Reproduction Nutrition Development* 42: 601-611.
- Marín ALM, Hernández MP, Pérez L, Alba GGC, Pardo DC. 2010. Metabolismo de los lípidos en los rumiantes. *Revista Electronica de Veterinaria* 11: 1-21.
- Martínez Marín AL, Pérez Hernández M, Pérez Alba L, Gómez Castro G. 2010. Digestión de los lípidos en los rumiantes: una revisión. *Interciencia* 35: 240-247.
- Mattos R, Staples CR, Thatcher WW. 2000. Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminants. *Reviews of Reproduction* 5: 38-45.
- McCracken JA, Carlson JC, Glew ME, Goding JR, Baird DT, Green K, Samuelsson B. 1972. Prostaglandin F_{2α} identified as a luteolytic hormone in sheep. *Nature New Biology* 238: 129-134.

- Menchaca A, Rubianes E. 2001. Effect of high progesterone concentrations during the early luteal phase on the length of the ovulatory cycle of goats. *Animal Reproduction Science* 31: 69-76.
- Menchaca A, Rubianes E. 2004. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reproduction, Fertility and Development* 16: 403-413.
- Mogase CR, Lehloenya KC, Dattena M. 2016. Applicability of Day 0 superovulation protocol in Boer goats. *Small Ruminant Research* 136: 261-264.
- Monniaux D, Chupin D, Saumande J. 1983. Superovulatory responses of cattle. *Theriogenology* 19: 55-81.
- Motlomelo KC, Greyling JPC, Schwalbach LMJ. 2002. Synchronisation of oestrus in goats: the use of different progestagen treatments. *Small Ruminant Research* 45: 45-49.
- Mutiga ER, Baker AA. 1984. Effect of reduced daylight length on oestrus occurrence and superovulatory response in ewes treated with follicle stimulating hormone during the nonbreeding season. *Veterinary Record* 114: 13-15.
- National Research Council. NRC. 2007. Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and new world camelids. National Academy of Science, Washington, DC, p. 347.
- Nowshari MA, Backers JF, Holtz W. 1995. Superovulation of goats with purified pFSH supplemented with defined amounts of pLH. *Theriogenology* 43: 797-802.
- O'callaghan D, Yaakub H, Hyttel P, Spicer LJ, Boland MP. 2000. Effect of nutrition and superovulation on oocyte morphology, follicular fluid composition and systemic hormone concentrations in ewes. *Journal of Reproduction and Fertility* 118: 303-314.
- Oliveira JDK, Fonseca JFD, Souza-Fabjan JMG, Esteves LV, Feres LFR, Rodrigues CAF, Brandão FZ. 2017. Protected fatty acid supplementation during estrus synchronization treatment on reproductive parameters of dairy goats. *Journal of Animal Science* 88: 254-258.

- Padilla G, Knight PG, Holtz W. 2008. Superovulation and embryo collection in nulliparous Boer goat does immunized against a recombinant ovine α -subunit inhibin. *Small Ruminant Research* 74: 159-164.
- Pereira BM, Fernandes CAC, Figueiredo ACS, Gioso MM, Vasconcelos TD, Oliveira ER, Alves BFL. 2007. Influence of energetic and mineral supplementation in superovulated cows embryo production. *Acta Scientiae Veterinariae* 35: 1216.
- Petit HV, Twagiramungu H. 2006. Conception rate and reproductive function of dairy cows fed different fat sources. *Theriogenology* 66: 1316-1324.
- Phillips DJ, Hudson NL, Lun S, Condell LA, McNatty KP. 1993. Biopotency in vitro and metabolic clearance rates of five pituitary preparations of follicle stimulating hormone. *Reproduction, Fertility and Development* 5: 181-190.
- Pintado B, Gutiérrez-Adán A, Pérez Llano B. 1998. Superovulatory response of Murciana goats to treatments based on PMSG/anti-PMSG or combined FSH/PMSG administration. *Theriogenology* 50: 357-364.
- Puls-Kleingeld M, Yuswiati E, Nowshari MA, Beckers JF, Holtz W. 1991. The effect of FSH/LH ratio and treatment schedule on the superovulatory response in goats. *Journal of Reproduction and Fertility* 43: 308.
- Relling AE, Mattioli GA. 2003. Fisiología digestiva y metabólica de los rumiantes. Argentina: UNLP Editorial Edulp. pp. 23-55.
- Riesenberg S, Meinecke-Tillmann S, Meinecke B. 2001. Ultrasonic survey of follicular development following superovulation with a single application of pFSH, eCG or hMG in goats. *Small Ruminant Research*. 40: 83-93.
- Rigolon LP, Prado LN, Cavalieri FLB, do Nascimento WG, Negrao, JA. 2003. Effect of different levels of energy intake on production and viability of embryos in heifers and cows. *Revista Brasileira de Zootecnia* 32: 1304-1310.
- Rodríguez-Cruz M, Tovar AR, del Prado M, Torres N. 2005. Mecanismos moleculares de acción de los ácidos grasos poliinsaturados y sus beneficios en la salud. *Revista de Investigación Clínica* 57: 457-472.

- Romano JE. 2004. Synchronization of estrus using CIDR, FGA or MAP intravaginal pessaries during the breeding season in Nubian goats. *Small Ruminant Research* 55: 15-19.
- Rubianes E, Ibarra D, Ungerfeld R, De Castro T, Carbahal B, 1995. Superovulatory response in anoestrous ewes is affected by the presence of a large follicle. *Theriogenology* 43: 465-474.
- Rubianes E, Menchaca A. 2003. The pattern and manipulation of ovarian follicular growth in goats. *Animal Reproduction Science* 78: 271-287.
- Rubianes E, Ungerfeld R, Viñoles C, Rivero A, Adams GP. 1997. Ovarian response to gonadotrophin treatment initiated relative to wave emergence in ultrasonographically monitored ewes. *Theriogenology* 47: 1479-1488.
- Saharrea A, Valencia J, Balcazar A, Mejia O, Cerbon JL, Caballero V, Zarco L. 1998. Premature luteal regression in goats superovulated with PMSG: effect of hCG or GnRH administration during the early luteal phase. *Theriogenology* 50; 1039-1052.
- Shaw DW, Farin PW, Washburn SP, Britt JH, 1995. Effect of retinol palmitate on ovulation rate and embryo quality in superovulated cattle. *Theriogenology* 44: 51-58.
- Staigmiller RB, Bellows RA, Anderson G, Seidel GE, Foote WD, Menino AR, Wright RW. 1992. Superovulation of cattle with equine pituitary extract and porcine FSH. *Theriogenology* 37: 1091-1099.
- Staples CR, Burke JM, Thatcher WW. 1998. Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. *Journal of Dairy Science* 81: 856-871.
- Suyadi H, Sohnrey B, Holtz W. 2000. Transcervical embryo collection in Boer goats. *Small Ruminant Research* 36: 195-200.
- Terawaki Y, Asada Y. 2002. Relationships between distribution of number of transferable embryos and inbreeding coefficient in a MOET dairy cattle population. *Journal of Animal Science* 15: 1686-1689.

- Thangavelu G, Colazo MG, Ambrose DJ, Oba M, Okine EK, Dyck MK. 2007. Diets enriched in unsaturated fatty acids enhance early embryonic development in lactating Holstein cows. *Theriogenology* 68: 949-957.
- Thomas MG, Bao B, Williams GL. 1997. Dietary fats varying in their fatty acid composition differentially influence follicular growth in cows fed isoenergetic diets. *Journal of Animal Science* 75: 2512-2519.
- Whitley NC, Jackson DJ. 2004. An update on estrus synchronization in goats: A minor species. *Journal of Animal Science* 82: 270-276.
- Wildeus S. 2000. Current concepts in synchronization of estrus: sheep and goats. *Journal of Animal Science* 77: 1-14.
- Wiltbank JN, Rowden WW, Ingalls JE, Geegoey KE, Koch RM. 1962. Effect of energy level on reproductive phenomena of mature Hereford cows. *Journal of Animal Science* 21: 219-225.
- Yamamoto M, Hibi H, Tsuji Y, Miyake K. 1994. The effect of varicocele ligation on oocyte fertilization and pregnancy after failure of fertilization in in vitro fertilization-embryo transfer. *Actas de Urologia* 40: 683-687.
- Zachut M, Arieli 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.
- Zeron Y, Sklan D, Arav A. 2002. Effect of polyunsaturated fatty acid supplementation on biophysical parameters and chilling sensitivity of ewe oocytes. *Molecular Reproduction and Development* 61: 271-278.