



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO**

---

**DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS  
NATURALES**

**“EFECTO DE LA ADICION DE GRASA A LA DIETA EN EL  
COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO DE HEMBRAS OVINAS  
SUFFOLK”**

*TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTORA EN CIENCIAS  
AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES*

PRESENTA

**ANABEL ROMERO DÁVILA**

**COMITÉ DE TUTORES:**

DR. NAZARIO PESCADOR SALAS

DR. EUGENIO VILLAGOMEZ AMEZCUAMANJARREZ

DR. HECTOR JIMENEZ SEVERIANO

El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, México, Febrero de 2014



**“EFECTO DE LA ADICION DE GRASA A LA DIETA EN EL  
COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO DE HEMBRAS OVINAS  
SUFFOLK”**

## RESUMEN

La eficiencia reproductiva de los animales está marcada por el inicio de la pubertad, fertilidad y prolificidad. El suministro de ácidos grasos en la dieta tiene efecto en los procesos reproductivos. La nutrición y condición corporal se encuentran directamente relacionadas con el inicio de la pubertad. En el presente trabajo se evaluó el efecto de la adición de ácidos grasos poliinsaturados (AGP) de sales de calcio (Megalac®-R) a la dieta sobre la edad de inicio de la pubertad de corderas Suffolk. Los resultados de la edad de inicio de la pubertad mostraron que existen diferencias estadísticas entre los tratamientos T1:  $219,01 \pm 6,14^a$ , T2:  $152 \pm 7,31^b$  y T3:  $149 \pm 7,04^b$  días, con el peso en kg fue de  $41,53 \pm 1,11^a$ ,  $42,45 \pm 1,35^a$  y  $52,96 \pm 1,44^b$  ( $P < 0,0001$ ), respectivamente. La concentración sérica de colesterol (T1:  $2,18^a$ , T2:  $2,24^{ab}$  y T3:  $2,41^b$ ) y HDL (T1:  $1,43^a$ , T2:  $1,94^{ab}$  y T3:  $2,34^b$ ) muestran diferencias ( $P < 0,0001$ ). Los resultados obtenidos indican que la adición de AGP disminuye la edad de inicio de la pubertad de las corderas Suffolk.

Por otra parte, debido a que existen grasas protegidas a nivel comercial que no proveen AGP de interés en la reproducción se planteo elaborar la protección de aceites de alto contenido de AGP, para la alimentación de rumiantes. Se utilizó aceite de canola, cártamo, soya, maíz, ajonjolí y girasol, los cuales fueron saponificados con NaOH y Ca a diferentes temperaturas (60, 120 y 180°C.), y se determinó su grado de dureza (Nw), pH a los 0 y 7 d, y la energía bruta (cal/kg) del aceite y el jabón. La concentración energética fue superior ( $P < 0,001$ ) para el aceite de Cártamo con respecto al de Ajonjolí, no mostrando diferencias para el resto de los aceites ( $P > 0,05$ ), la concentración energética de los jabones fue menor en un 30 %, siendo superior ( $P < 0,001$ ) para canola y cártamo. La textura fue superior para los jabones a base de ajonjolí y girasol ( $P < 0,001$ ), con respecto a los demás

jabones. En cuanto al efecto de la temperatura para la elaboración de los jabones, no se observaron diferencias ( $P > 0.05$ ). El pH para los jabones fue superior el día cero ( $P < 0.05$ ) con respecto al día 7. Por lo que la concentración energética de los aceites y jabones varía en función de su fuente de origen, los jabones de canola y cártamo energéticamente son superiores, sin verse afectados por la temperatura para su elaboración.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al CONACYT por la beca otorgada para la realización de estudios de posgrado en la Universidad Autónoma del Estado de México.

Al PROMEP/ 103.5/07 2572 por el financiamiento Otorgado para la realización de este trabajo.

A la Universidad Autónoma del Estado de México por el apoyo otorgado a través del proyecto de Innovación y Desarrollo Tecnológico 3060/2011.

Al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, CENID Microbiología y CENID FyMA, por las facilidades otorgadas para el procesamiento de muestras de trabajo.

Al Dr. Manuel González Ronquillo por su valiosa colaboración en la realización y conclusión del presente trabajo.

A mis tutores Dr. Pescador, Dr. Villagómez y Dr. Jiménez.

Colegas que participaron en la realización de este trabajo al Dr. Buendia, M en C Jaramillo y Gómez.

# CONTENIDO

	Página
TITULO	iii
RESUMEN	iv
AGRADECIMIENTOS	vii
CONTENIDO	viii
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS	x
CAPITULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
CAPITULO II. REVISIÓN DE LITERATURA	6
2.1 Efecto de la suplementación de grasa protegida en la reproducción	6
2.2 Aspectos reproductivos en las hembras ovinas	8
2.2.1 Pubertad	8
2.2.2 Ciclo estral	10
2.2.3 La progesterona y su regulación	11
2.2.4 Lipoproteínas y aporte de colesterol en la esteroidogénesis ovarica	13
2.2.5 Leptina	15
2.2.6 La insulina en la reproducción	19
2.2.7 Condición corporal	20
2.2.8 Fertilidad y Prolificidad	22
2.3 Generalidades de las grasas	22
	vii

2.3.1 Acidos grasos	23
2.3.2 Fuentes de grasas	26
2.3.3 Sales cálcicas de ácidos grasos	28
2.3.4 Grasas hidrogenadas	30
2.3.5 Digestión ruminal de los ácidos grasos	32
2.3.6 Digestión y absorción intestinal de los ácidos grasos	33
2.3.7 Disponibilidad de las grasas	34
CAPITULO III. JUSTIFICACIÓN	37
CAPITULO IV. HIPOTESIS	39
CAPITULO V. OBJETIVOS	40
CAPITULO VI. METODOLOGIA	41
CAPITULO VII. RESULTADOS	42
CAPITULO VIII. EFECTO DE LA ADICIÓN DE GRASA PROTEGIDA EN LA EDAD DE INICIO DE LA PUBERTAD DE CORDERAS SUFFOLK	43
CAPITULO IX. CHARACTERISTICS OF CALCIUM SOAPS FROM DIFFERENT OIL SOURCES.	58
CAPITULO X. CONCLUSION GENERAL	69
CAPITULO XI. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	70

## LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

	Página
CAPITULO II. REVISIÓN DE LITERATURA	
Fig 1. Estructura química de los ácidos grasos esenciales	26
Fig 2. Unión de los enlaces de calcio y aceite	29
CAPITULO VIII. EFECTO DE LA ADICIÓN DE GRASA PROTEGIDA EN LA EDAD DE INICIO DE LA PUBERTAD DE CORDERAS SUFFOLK	
Cuadro 1. Efecto de la adición de grasa protegida sobre el inicio de la pubertad de las corderas Suffolk	55
Cuadro 2. Concentración de metabolitos lipídicos en corderas suplementadas con grasa protegida	56
Cuadro 3. Efecto de la adición de grasa protegida sobre la medición de grasa dorsal a nivel de 12 <sup>a</sup> y 13 <sup>a</sup> costilla de las corderas al finalizar el periodo experimental	57
CAPITULO IX. CHARACTERISTICS OF CALCIUM SOAPS FROM DIFFERENT OIL SOURCES	
Tabla 1. Gross energy (GE) content (kcal / kg) of different oils and their respective soaps elaborated at 120 °C.	66
Tabla 2. Effect of oil source and elaboration temperature on texture (Nw) and final temperature (T, °C) of calcium soaps	66
Tabla 3. Effect of oil source and time (days) after elaboration on pH of calcium soaps	66

## CAPITULO I. INTRODUCCION GENERAL

Los beneficios del estado nutricional y corporal de los animales repercute directamente sobre la actividad reproductiva (Forcada and Abecia 2006; Viñoles et al., 2002; Robinson et al., 2006). Los cambios en las reservas corporales y el consumo de alimento se han relacionado directamente con la secreción de gonadotropinas, las cuales intervienen de manera directa en la secreción de LH y FSH, provocando cambios en la dinámica folicular, tasa ovulatoria y desarrollo embrionario (Borowezyk et al., 2006; Boland et al., 2000).

Los mecanismos mediante la nutrición afecta los procesos reproductivos aun no se han determinado en su totalidad, sin embargo se han estimado a través de los niveles de hormonas metabólicas (Scaramuzzi et al., 2006). Las concentraciones séricas de insulina se consideran una de las principales señales de cambio metabólico de un animal y se involucra con la liberación de LH, además de tener un efecto sobre la actividad ovárica e interactuar directamente con los niveles de leptina (Viñoles et al., 2005).

El aporte energético en los animales rumiantes tiene un fuerte efecto sobre la actividad reproductiva, sin embargo la respuesta está condicionada por la fuente de energía y por lo tanto la respuesta hormonal se puede modificar de acuerdo a la fuente de la cual provenga semillas oleaginosas, grasas saturadas, poliinsaturadas o grasas protegidas (Mattos et al., 2000). Una estrategia de alimentación utilizada durante el ciclo estral es el aporte por periodos cortos de energía, de los días 9 al 13 del ciclo de la oveja con la finalidad de cambiar el estado metabólico e incrementar la tasa ovulatoria (Viñoles et al., 2005; Somchit et al., 2007).

A su vez el estado nutricional de los animales tiene un fuerte impacto sobre la presentación del primer celo en las hembras, y está influenciado por la raza, fotoperiodo y época de nacimiento de las corderas. Las ovejas de pelo tienden a manifestar la pubertad a edad más temprana que las de lana, otro factor que afecta el inicio de la pubertad es la ganancia diaria de peso, esto se observa en animales que tienen una mayor velocidad de crecimiento, en donde se indica que las corderas deben tener entre el 40 al 60% como mínimo, de su peso corporal adulto, por lo que se ha considerado que la nutrición tiene influencia sobre el inicio de la actividad reproductiva, es decir el inicio de la pubertad. En diversos trabajos han encontrado que animales subalimentados durante la etapa prepúber, retrasa el desarrollo sexual, así como una buena nutrición puede adelantarlos. Esto se ha relacionado de manera directa con la secreción de leptina una hormona que ha sido relacionada con el inicio de la pubertad, este fenómeno fue observado en ratas inicialmente (Cheung et al., 1997, Chehab et al., 1997), posteriormente se asocio también al humano y cerdos (Dyer et al., 1997).

El inicio temprano de la actividad reproductiva es una ventaja económica debido a que incrementa la vida productiva de los animales, el inicio de la pubertad y la edad al primer parto representa el inicio de la vida productiva del animal y que este hecho más que la pubertad es el que realmente le interesa al productor. Los reportes ubican el primer parto entre el año y medio y los dos años de edad. Si se consideran los factores que afectan la presentación de la pubertad, es fácil entender entonces que estas variaciones pueden responder a efectos raciales, de estacionalidad – época de parto y de la situación nutricional de los animales entre otros (Osorio et al., 1997).

Los ácidos grasos se han utilizado como una estrategia nutricional para mejorar los parámetros reproductivos de los animales, no solo en animales

jóvenes sino también en animales adultos a quienes se les ha proporcionado suplementos ricos en ácidos grasos con la finalidad de mejorar las tasas de fertilidad y prolificidad (Mattos et al., 2000).

En las dietas para rumiantes se ha empleado sebo (Son et al., 1996), grasa amarilla (DePeters et al., 1987), aceite de pescado (Carroll et al., 1994), semillas de algodón (Horner et al., 1986), soya , girasol y cártamo (Stegeman et al., 1992), canola (Khorasani et al., 1998), grasa hojuelada (Elliott et al., 1994), grasa hidrogenada (Drackley et al., 1993) y grasas de jabones de calcio (Ferguson et al., 1990), las cuales han sido utilizadas en su mayoría, con el propósito de aumentar la densidad energética, principalmente para incrementar la producción de leche en vacas.

Ferguson y col. (1990) reportaron que al suplementar a las vacas con 0.5 kg de grasa por día, éstas tuvieron una mayor tasa de concepción al primer servicio (59.1 vs 42.6%) y un mejor servicio por concepción (1.59 vs 1.91) en comparación con aquellas que no fueron suplementadas. Por otra parte, Salan y col. (1991) encontraron también efectos positivos en la tasa de concepción (1.59 vs 1.91) en comparación con aquellas que no han sido suplementadas.

En cuanto a la utilización de ácidos grasos con calcio en la dieta de las vacas se han observado efectos positivos en la tasa de concepción (TC). La tasa de concepción en la primera inseminación posparto fue similar para ambos grupos (2.6% y 0% de grasa en la dieta), sin embargo la TC de la segunda a la cuarta inseminación artificial fue de 42.6 vs 25 % respectivamente, a su vez el porcentaje de preñez (82.4 vs 62.5) fue mayor y los día abiertos más cortos (115 vs 149) para los animales con grasa y sin grasa en la dieta respectivamente (Skalan et al., 1991). En ovejas pelibuey se utilizaron ácidos grasos poliinsaturados en la dieta y se observó un efecto

positivo en la producción de embriones sin embargo no sobre su calidad (Herrera-Camacho et al., 2008).

La nutrición en los rumiantes tiene efectos positivos sobre la reproducción, en la oveja también puede influir moderadamente en la estacionalidad de los animales, sin embargo esto depende de la estación en la cual se encuentren. La estimulación nutricional durante la época reproductiva en los ovinos va encaminada en tratar de disminuir la estacionalidad de esta especie (Forcada y Abecia, 2006).

En el presente trabajo se realizó el manejo nutricional a través de la utilización de ácidos grasos poliinsaturados con la finalidad para alcanzar el peso requerido dentro de la primera estación de apareamiento, de tal forma que las corderas puedan ser servidas durante este periodo, por lo cual se utilizó el Megalac- R® en corderas pre púberes para evaluar el efecto de este tratamiento sobre la disminución de la edad en que estas alcanzan la pubertad lo cual constituye el inicio de su actividad reproductiva como una posibilidad de integrar a las hembras al rebaño productivo.

El uso de grasas protegidas o grasas de sobrepaso disminuyen los problemas de fermentación ruminal ocasionados al suplementar con grasas naturales, por lo que el desarrollo de jabones con sales de calcio es un método eficaz para evitar los efectos adversos de las grasas y que de este modo pueden ser utilizados en la alimentación de los rumiantes.

A nivel comercial existen fuentes de ácidos grasos protegidos como el Megalac® y Lactomil® y han sido utilizados en los rumiantes, sin embargo no proveen ácidos grasos poliinsaturados como el linoleico y linolénico, los cuales son esenciales para diferentes funciones fisiológicas y de interés en la reproducción. Por lo cual en este trabajo se planteo la utilización de sales

de calcio en la elaboración de grasas protegidas (saponificación) de alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados (cártamo, canola, soya, maíz, girasol y ajonjolí).

## **CAPITULO II. REVISION DE LITERATURA.**

### **2.1 Efecto de la suplementación de grasa protegida en la reproducción**

La suplementación con grasa protegida se ha utilizado alrededor de un 3% en relación a la materia seca presente en la dieta (Palmquist, 1994), tiene efectos positivos sobre la reproducción, afectando el número y tamaño de folículos preovulatorios, incremento en la concentración sérica de progesterona, aumento de la vida media del cuerpo lúteo, disminución de la producción de PGF<sub>2</sub>α y mejora en la tasa de fertilidad.

La reproducción de los animales rumiantes está estrechamente relacionada con la disponibilidad de energía, la grasa y los aceites intervienen en el reinicio de la actividad reproductiva posparto. Se ha encontrado que la inclusión de grasas protegidas en la dieta de vacas lecheras afecta de manera positiva diversos parámetros reproductivos, aunque se desconoce el mecanismo por el cual actúan, en esta especie se ha asociado a que promueve un rápido retorno del balance energético y por ende se reinicia la actividad ovárica posparto (Staples et al., 1998).

El ácido linoleico presente en las grasas puede mejorar el reclutamiento folicular y las tasas de concepción, así como estimular el transporte de colesterol lipoproteico por el intestino e incrementar la concentración plasmática de colesterol de las lipoproteínas de alta y baja densidad (Talavera et al., 1985), además de reducir la concentración de prostaglandinas, incrementar la fertilidad y vida media del cuerpo lúteo (Mattos et al., 2000)

La grasa de sobrepaso proporcionada a vacas incremento el número de folículos con un tamaño de 6-9 mm y disminuyo el número de folículos de 3-5 mm de diámetro, favoreciendo la actividad ovárica, debido a que se incrementaron las concentraciones plasmáticas de LH (Lucy et al., 1991). En el caso de la oveja se encontró que la suplementación con semillas oleaginosas incrementa la población de folículos medianos a grandes así como favorece la viabilidad embrionaria (Herrera- Camacho et al., 2008).

La suplementación de raciones con lípidos afecta positivamente el desarrollo folicular (Wherman et al., 1991) y vida del cuerpo lúteo (Ryan et al., 1995). Los efectos reproductivos observados en las hembras rumiantes son más visibles cuando estas se encuentran en un proceso de subalimentación o en balance energético negativo en donde existe un incremento de la población folicular, pero no de la condición corporal ni del peso vivo (Forcada y Abecia, 2006).

Se manejan diversas hipótesis con respecto a la inclusión de aceites o grasas en la dieta de los animales para mejorar los parámetros reproductivos, 1) disminución del balance energético negativo durante el periodo posparto, lo que mejora la fertilidad y a su vez la esteroidogénesis al tener una mayor cantidad de colesterol, el cual es el sustrato para la síntesis de hormonas esteroides, 2) estimulación de la función celular ovárica al alterar las concentraciones de insulina, 3) estimulación o inhibición en la síntesis de PGF2a involucrada en la vida del cuerpo lúteo (Stapples et al., 1998; Mattos et al., 2000).

## **2.2 Aspectos reproductivos de las hembras ovinas**

### **2.2.1 Pubertad**

La pubertad es el inicio de la capacidad reproductiva y es un fenómeno caracterizado por una disminución de la tasa de crecimiento y la activación del eje gonadotrópico (Abecia y Forcada, 2006). El mecanismo que desencadena la pubertad es un proceso sumamente complejo. Se ha propuesto que las neuronas de GnRH están razonablemente maduras al nacimiento, sin embargo, conforme inicia el proceso de crecimiento, se suprime la liberación pulsátil de GnRH. Conforme se acerca a la etapa prepuberal, las señales inhibitorias son disminuidas y posteriormente removidas, ocurriendo un incremento en la liberación pulsátil de GnRH. El cambio de un estado prepuberal a uno puberal considera marcados cambios en la función del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas. Previo a la pubertad, la secreción de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) está significativamente inactiva. Al inicio de la pubertad, el gonadostato hipotalámico está deprimido y la amplitud de los pulsos de GnRH se incrementa. Los niveles de las hormonas gonadotrópicas, folículo estimulante (FSH) y luteinizante (LH), se incrementan gradualmente durante la pubertad estimulando la maduración de folículos y la producción de estrógenos en los ovarios (Houseknecht et al., 1998).

El inicio de la pubertad en los animales es un proceso complejo que involucra diversos fisiológicos. Se ha propuesto que es iniciado por la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH). En la pubertad los pulsos de GnRH, dan como resultado una mayor secreción de gonadotropinas, el crecimiento acelerado, maduración de las gónadas, y el logro de la competencia sexual.

La secreción pulsátil de gonadotropinas se incrementa durante el día, estimulando la secreción pulsátil de las hormonas gonadotrópicas folículo estimulante (FSH) y luteinizante (LH). Los niveles de las hormonas LH y FSH se incrementan gradualmente durante la pubertad, estimulando la maduración folicular y la producción de estrógenos ováricos (Henry et al ., 2001).

El papel que desempeña la leptina en el desarrollo sexual no ha sido totalmente definido, pero el balance de la evidencia actual parece apoyar la idea de que, tanto en roedores y primates, la leptina juega un papel crucial en el inicio de la pubertad. Cuando las reservas corporales de energía se incrementan, los niveles séricos de leptina incrementan interviniendo en la señalización del sistema nervioso central que regula la función sexual.

Se ha propuesto que la primera fase folicular es iniciada cuando la inhibición de estradiol sobre la secreción de LH decrece suficientemente para permitir la expresión de un ritmo pulsátil de LH cada 60 minutos. Este ritmo circa horal de LH se cree que promueve la producción de estradiol a niveles que inducen el primer pico preovulatorio de LH. Esta hipótesis está basada en varias consideraciones. Primero, la secreción pulsátil de LH invariablemente ocurre a bajas frecuencias en hembras prepúberes, mientras que los pulsos circahorales se manifiestan en animales postpuberales y maduros durante la fase folicular del ciclo estral. Segundo, la administración intravenosa de LH a intervalos de 60 minutos en hembras inmaduras resulta en un incremento en el tamaño folicular, en la inducción del pico preovulatorio de LH, en ovulación, y en la formación del cuerpo lúteo (Foster y Ryan, 1981).

### **2.2.2 Ciclo estral**

El ciclo estral es un intervalo entre dos estros, el cual está regulado por procesos endocrinos, y comprende el desarrollo folicular, la ovulación y latinización. En la oveja el ciclo estral tiene una duración promedio de 16 a 17 días (Hafez et al., 2000), y de acuerdo a su actividad reproductiva puede clasificarse dentro del grupo de animales poliéstricos estacionales de días cortos, manifestándose principalmente en las latitudes nórdicas, ya que se relaciona con el fotoperíodo, así como con la disminución de la temperatura ambiental. En las regiones tropicales o cercanas al ecuador presentan actividad sexual durante todo el año, a causa de que no hay gran variación en la cantidad de horas luz del día (Shelton, 1978; Galina y Valencia, 2006).

El estro es el periodo de aceptación sexual y es donde ocurre la ovulación en la mayoría de las especies domésticas. Para su estudio el ciclo estral se ha dividido en dos fases folicular y lútea, las cuales se encuentran condicionadas por la actividad hormonal que influye de manera directa sobre la dinámica de órganos y glándulas endocrinas (Hafez et al., 2000; Galina y Valencia, 2006).

Las gonadotropinas (Gn) Hormona Folículo Estimulante (FSH) y Hormona Luteinizante (LH) se encuentran involucradas en el proceso de estimulación de la foliculogénesis, luteogénesis y producción de hormonas esteroideas por parte de las gónadas. Inicialmente la FSH es la encargada de llevar a cabo el estímulo para desarrollar un folículo, posteriormente la LH termina de madurarlo y produce la ruptura de éste dando como resultado la ovulación. Los restos del folículo que ovuló se convierten en una glándula endocrina temporal el Cuerpo Lúteo, fuente de Progesterona durante la fase lútea. (Niswender et al., 2000).

### 2.2.3 La progesterona y su regulación

La progesterona ha sido utilizada para monitorear estado reproductivo de los animales. Durante la esteroidogénesis folicular y luteal se requiere como sustrato al colesterol, para intervenir en la formación de hormonas esteroidales como son los estrógenos y progesterona (secretada durante la fase lútea) principalmente. La progesterona (P4) es indispensable para el inicio y mantenimiento de la gestación en los mamíferos. Se ha considerado que altas concentraciones de P4 en plasma se asocian con mejores tasas de concepción y fertilidad en hembras rumiantes. Por tal motivo la suplementación con grasa puede mejorar la síntesis de progesterona mejorando así la fertilidad de las hembras (Staples y Thatcher, 1997).

Para que puedan formarse las hormonas esteroidales es indispensable contar con el aporte de colesterol, su síntesis en condiciones normales está regulada por el hígado e intestino (Grummer y Carroll, 1988), también a partir de la hidrólisis de ésteres de colesterol almacenados en la célula y en algunos casos cuando existe una privación del abastecimiento de colesterol se puede sintetizar a partir de acetato derivado del metabolismo de los carbohidratos, grasas o proteínas, proceso denominado síntesis de novo (Strauss et al., 1981). Una alta ingesta de colesterol en los alimentos conduce a una disminución neta de la producción endógena y viceversa, teniendo una relación indirecta con los niveles plasmáticos de colesterol. (Niswender et al., 2000).

El colesterol es un compuesto policíclico de 24 carbonos, insoluble en agua, por lo cual es transportado de la sangre a los tejidos esteroidogénicos asociado a complejos macromoleculares constituidos de fosfolípidos, ésteres de colesterol, triglicéridos y proteínas. Estos últimos son conocidos como lipoproteínas y de acuerdo al tamaño de la molécula se dividen en

lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) menores a 1.006g/ml, baja densidad (LDL) entre 1.006 a 1.062 g/ml y alta densidad (HDL) entre 1.063 a 1.21 g/ml. baja (LDL; Brown y Goldstein, 1979),

Las proporciones de lipoproteínas también han podido ser observadas en el líquido folicular del bovino, en el caso de los folículos con antro grande puede existir una diferencia entre el contenido de LDL- VLDL y HDL, el cual es más alto que en sangre, a diferencia de los de antro pequeño en donde no se observaron diferencias entre el líquido folicular y el plasma, teniendo predominancia las HDL, a su vez las LDLr tienen una expresión del mRNA mas abundante en los folículos con antro pequeño, ya que los grandes disminuyen su expresión y a su vez la concentración del mRNA de SR-B1 se incrementa (Argov et al., 2004), esto también se ha observado en la cerda (Miranda-Jimenez y Murphy, 2007).

La producción de hormonas esteroides es esencial para mantener los procesos reproductivos de los animales. Al producirse la fertilización se inicia la formación de la placenta durante la embriogénesis, cuya función es la de nutrir, oxigenar y eliminar desechos en el feto. Diversos estudios muestran que cuando existe una desnutrición en los animales puede existir una falla en la reproducción debido a anomalías presentes en el huevo, embrión, falta de reconocimiento fetal o déficit en la producción de hormonas esteroides (P4) que son esenciales para el mantenimiento de la gestación. Cuando existen variaciones fisiológicas entre la concentración de progesterona en útero y torrente sanguíneo durante la fertilización puede ocurrir una falla en la implantación, por lo cual es esencial en el desarrollo embrionario (Abecia et al., 2006).

Las lipoproteínas son esenciales para el transporte del colesterol, la cual es una molécula necesaria para la síntesis de hormonas esteroides (estrógenos

y progestágenos). Las concentraciones séricas elevadas de LDL y HDL se han relacionado con altas concentraciones de progesterona, secretada por el cuerpo luteo (Carrol et al., 1997), también se ha asociado la presencia de estas lipoproteínas con la estimulación directa de IGF-I por parte de las células luteales (Bao et al., 1997)

La insulina es una hormona que predomina en un esquema de balance energético positivo y es responsable del anabolismo graso, además de incrementar la captación de glucosa. La concentración plasmática de esta hormona regula a la lipoproteinlipasa que abastece de ácidos grasos a los tejidos, principalmente al tejido adiposo.

El metabolismo de los lípidos se asocia al metabolismo energético del animal, ya que aporta el doble de energía por unidad de peso, que las proteínas y carbohidratos. Los lípidos son sintetizados (liponeogenesis) o degradados (lipolisis) en respuesta al balance energético. La lipolisis ocurre en un estado de balance energético positivo y comprende la síntesis de ácidos grasos y esterificación para formar triacilglicéridos. Durante la lipolisis disminuye la concentración de AMPc y la lipasa hormona-sensible (encargada de hidrolizar y liberar al primer ácido graso del triacilglicérido), la prostaglandina E y adenosinas pueden inhibir a esta enzima (Lodish *et al*, 2005).

#### **2.2.4 Lipoproteínas y aporte de colesterol en la esteroidogénesis ovárica**

Staples et al., 1998 mencionó que el efecto que tiene la grasa sobre la esteroidogénesis folicular y luteal, es debido a una mayor concentración de colesterol sanguíneo, sustrato esencial para la síntesis de progesterona por

el cuerpo lúteo, lo que ha sido asociado a mejores tasas de concepción, esta hormona es necesaria para la implantación y mantenimiento de la gestación.

Los niveles de concentración plasmática de Progesterona es un indicador de la función ovárica de los animales, lo que permite monitorear el estado actual del estado reproductivo.

La alimentación se acompaña de fluctuaciones en los niveles séricos hormonales y de diversos metabolitos. La insulina, factores de crecimiento análogos a la insulina (IGF), leptina, cortisol y diversos metabolitos son indicadores del estado energético del animal, por lo cual son relacionados directamente con la actividad del eje gonadotropo, que interviene regulando el mecanismo de la reproducción (Viñoles et al., 2005).

La nutrición puede cambiar el comportamiento reproductivo debido a la modulación de gonadotropinas, ya que interviene a nivel circulante de la FSH y LH y por tanto en el efecto directo a nivel ovárico. Por tal motivo se considera de importancia la investigación en relación a la nutrición-reproducción en los ovinos, a través de la utilización de ácidos grasos en la dieta como estrategia nutricional para adelantar la edad a la pubertad de las ovejas y mejorar la eficiencia reproductiva durante su vida adulta.

La condición corporal de los animales está determinada por el suministro de ácidos grasos en la dieta, los cuales a su vez se relacionan con la reproducción. En ovejas subalimentadas se observó que disminuye la fertilidad y formación de blastocistos, por lo cual existe una correlación positiva entre la condición corporal y la formación de estos. Sin embargo el número de folículos desarrollados, ovocitos recuperados y viables, no difiere entre animales con una dieta deficiente y con una que cumpla sus requerimientos nutricionales (Borowczyk et al., 2006).

Existen hormonas asociadas a la condición corporal así como a las funciones reproductivas una de ellas es la leptina, la cual es un producto del gen de la obesidad secretada principalmente por los adipocitos. La leptina tiene un importante efecto en el control de peso, metabolismo y reproducción de los animales (Arazqi, 2006). Dentro de las funciones reproductivas que desempeña se considera como una hormona que estimula la iniciación de la pubertad (Caro et al., 1996), ya que se ha observado que puede iniciar el desarrollo del tracto reproductivo, esta hipótesis ha sido establecida debido a que en algunas especies dicha hormona se incrementa antes de la pubertad acelerando los eventos fisiológicos normales y llevando a la presentación de la misma (Foster y Nagatani, 1999). En humanos, cerdos y roedores se ha demostrado que las concentraciones séricas de leptina se incrementan en la etapa prepuber (Clayton et al., 1997; Quian et al., 1999; Ahima et al., 1997).

### **2.2.5 Leptina**

La leptina fue descrita e identificada por primera vez por Zhang y col. quien clono el gen OB de la obesidad de la rata y su homólogo en el humano. Su nombre proviene del griego "*leptos*" que significa delgado, por lo que es una hormona relacionada con la delgadez. Es una hormona de 146 aminoácidos con un peso molecular de 46kD. Tiene gran similitud con otras especies, el porcentaje de similitud entre el humano y la rata es de 83% y entre el humano y el ratón de 84% (Zhang et al., 1994).

Inicialmente se consideró que la leptina se formaba de forma exclusiva en el tejido adiposo, posteriormente se encontró que también es sintetizada por otros tejidos como la placenta, estomago e hígado, la cual regula diversas funciones metabólicas como son el consumo de alimento y reproducción. La

leptina tiene un efecto paracrino en el adipocito ya que el cortisol disminuye su secreción y la testosterona la incrementa, esto fue observado en humanos y se demostró que la leptina tiene participación activa e induce la baja de peso. Por lo que se encontró una estrecha correlación entre la leptina, el peso y la grasa corporal, e interviene en el balance energético. La leptina al pasar a torrente circulatorio atraviesa la barrera hematoencefálica y tiene efecto sobre el sistema nervioso central como es la regulación de la ingesta alimenticia, aumento del gasto cardíaco, procesos metabólicos y neuroendocrinos. Además de tener participación directa sobre la reproducción, adipogénesis e inmunidad (Friedman and Alaas, 1998). Los andrógenos, ácidos grasos de cadena larga y catecolaminas inhiben la síntesis de leptina, mientras que los estrógenos, insulina y glucocorticoides son reguladores positivos de la misma. Los niveles de leptina y la grasa del cuerpo tienen una alta correlación. Otros factores (el sexo, la variación diurna y la concentración de insulina en el suero) presentan una correlación en menor grado.

En animales obesos se encontró que existe un defecto en el receptor de la leptina en el cerebro y por ese motivo los transportadores de leptina se saturan y no pueden llevar la leptina al cerebro mandando una señal al organismo de que existe un exceso de leptina circulante y este efecto favorece aun más la obesidad. A este problema se le ha llamado el síndrome de resistencia a la leptina.

En la pubertad hay un incremento plasmático de esta hormona, relacionada con el aumento de la masa corporal y tejido adiposo principalmente observado en el humano, y se observo en mayor proporción en la mujer que en el hombre. De manera experimental la administración de leptina en el ratón indujo el estro e incremento la concentración de estradiol en el folículo del ovario. En el humano se ha encontrado que los niveles séricos de leptina

incrementan conforme se va aproximando a la pubertad, en las hembras es necesario un incremento del tejido adiposo para iniciar la actividad reproductiva, debido a que se requiere de cierta cantidad de depósitos grasos. La leptina en este caso tiene como función indicar que los depósitos grasos existen para iniciar con la reproducción y por lo tanto puede ser capaz de soportar la gestación (Barach et al. 1996).

La leptina también tiene acción sobre la secreción de la hormona folículo estimulante y luteinizante, por lo que los niveles de leptina durante la pubertad se incrementan conforme aumenta su actividad sexual, además de tener un efecto sobre la función gonadal. La pubertad en hembras tiene una relación estrecha con el incremento de peso, y se ha sugerido que el incremento de grasa contribuye al inicio de la misma. En animales delgados se ha visto que existe un retraso en su presentación, por lo que se ha visto que hay una relación estrecha con el eje hipotálamo- hipofisario- gonadal, informa al hipotálamo de la cantidad de grasa corporal existente para el inicio de la pubertad (Ovies et al., 1999).

La administración de leptina en ratones obesos a los que se les suprimió el gen que codifica para esta hormona (knockout) causa disminución del consumo alimenticio, pérdida de peso, incrementa el peso ovárico, incremento de folículos y reinicio de la fertilidad (Barash et al., 1996). Se encontró que una dosis fisiológica de leptina estimula la esteroidogénesis y tiene un papel importante en la estimulación de luteinización (Ruíz-Cortez et al., 2003). El efecto de la leptina en el ovario de la rata y humano induce la síntesis de P450 aromatasa y por consecuencia la producción de estrógenos (Kitawaki et al., 1999).

El sistema reproductivo de los mamíferos es altamente sensible a la disponibilidad de energía. Un cambio agudo en el estatus energético afecta

la actividad del eje gonadotropo- hipotálamo-hipofisiario. La restricción de alimento suprime los pulsos de LH en los animales de granja y en los humanos además de resultar en una falla del alcance a la pubertad y una temporal o permanente infertilidad. La relación entre la reproducción y la nutrición han sido estudiadas, los moduladores de este proceso a nivel sistema central son el neuropéptido Y (NPY, estimulador de la ingesta de alimento) y la leptina (disminuye la ingesta a través de la disminución en la secreción de NPY) como un transductor periférico (Friedman y Halasas, 1998). Ambos tienen un papel importante en la regulación del consumo de alimento a nivel sistema nervioso central. Los receptores de leptina han sido detectados en el núcleo arcuato y ventromedial del hipotálamo, estas dos áreas regulan el apetito y modulan la relación de LH el principal regulador de los procesos reproductivos (Wojcik-Gladysz et al., 2006).

La leptina participa en la regulación de la reproducción a través de la modulación de la cantidad del aporte energético presente en la reserva corporal que se dirige hacia las funciones reproductivas y por medio de la secreción de GnRH en el hipotálamo. En los rumiantes la secreción de leptina está correlacionada con los niveles de IGF-I (Houseknecht et al., 1998), la cual es una hormona que indica el balance energético de los animales.

El incremento agudo de la nutrición induce cambios en la concentración de nutrientes y hormonas en la circulación sanguínea, que a su vez regulan el eje reproductivo a nivel cerebral, la mejora por periodos cortos en alimentación incrementa las concentraciones de arginina prolina, fenilalanina, tirosina, metionina y fosfoserina en el plasma, los ácidos grasos volátiles y linoleico también se incrementan debido a este incremento agudo en la alimentación. Debido a estos cambios nutricionales hormonas que regulan el metabolismo como la leptina, insulina, IGF-1 entre otras sufren

cambios en su concentración, y a su vez regulan la secreción de gonadotropinas GnRH. Se ha probado que los ácidos grasos volátiles intervienen en la regulación de GnRH y liberación de LH ((Boukhlinq y Martin, 1997).

La concentración de leptina en sangre es mayor cuando la proporción de grasa almacenada es alta en vacas (Ji et al., 1997) y ovejas (Kumar et al 1998). En estudios realizados en vacas la grasa corporal desciende por debajo del 12.1% cuando la actividad reproductiva disminuye (Cassady et al., 2000). Autores como Houseknecht y col (1998) demostraron que la leptina participa en el establecimiento de la pubertad.

#### **2.2.6 La Insulina en la reproducción**

La insulina es una hormona producto de la secreción endógena del páncreas, cuya función es la de ingresar la glucosa a los tejidos. Las concentraciones de insulina en sangre se ven elevadas cuando existe una buena nutrición. El efecto de la suplementación con grasa sobre las concentraciones de insulina son variados, se ha observado que cuando se suplementa con grasa la insulina tiende a disminuir (Staples et al., 1998), lo que en otros términos al suplementar con grasa IGF-I puede afectar de forma positiva el desarrollo folicular y la esteroidogénesis en las células de la granulosa (Spincer et al., 1993). La insulina es una hormona que además de participar en el mantenimiento de la glicemia interviene en la secreción de FSH, la secreción pulsátil de LH y la secreción de progesterona por el cuerpo lúteo, por lo que la baja insulina en sangre se ha relacionado con una baja concentración de progesterona sérica (Huseknecht et al., 1998).

La glucosa es la fuente principal de energía para el ovario (Rabiee et al., 1999), por lo cual es importante incrementar los niveles de glucosa en sangre, con lo que se incrementan los niveles de insulina y mejora el crecimiento folicular (Oldick et al., 1997).

La leptina y la insulina tienen muchas propiedades comunes. Sus concentraciones circulantes son proporcionales a la adiposidad; la insulina entra también en el sistema nervioso central por un proceso de transporte saturable mediado por receptores a través de las células endoteliales de los capilares cerebrales; los receptores de la insulina están localizados en las mismas áreas hipotalámicas claves que los receptores de la leptina y la insulina administrada directamente en el SNC reduce la ingestión de alimentos y el peso corporal de una manera dependiente de la dosis. En cambio, la secreción de la insulina se produce en respuesta a una sola comida mientras que con la secreción de la leptina esto no ocurre. Aunque los mecanismos de control de la síntesis y secreción de la leptina permanecen aún sin aclararse, la insulina parece desempeñar un papel clave, aumentando con un retraso de varias horas la leptinemia (Houseknecht et al., 1998).

La insulina aumenta la producción de leptina, lo que se relaciona con la disminución sérica de leptina en y uno y con la hiperleptinemia que existe en los estados de insulino-resistencia, lo que también puede inducir una resistencia relativa a leptina.

### **2.2.7 Condición Corporal**

La condición corporal se refiere a la cantidad de grasa almacenada en el organismo en relación a la masa muscular, esto representa un estado de

confort y salud de los animales, lo que a su vez puede tener repercusión sobre el estado reproductivo, en el inicio de la actividad reproductiva, fertilidad y prolificidad (Manzano et al., 1999).

Dentro de las escalas frecuentemente utilizadas para evaluar la condición corporal está la de Russel y col 1969, en donde se hace presión sobre las apófisis espinosas de las vertebrae lumbares y apófisis transversas para determinar la profundidad del *longissimus dorsi* en donde se asigna un número en escala del 1 al 5, en donde 1 es para emaciados y 5 para animales obesos. Esta escala tiene la desventaja de ser un análisis subjetivo. En la actualidad se utiliza el ultrasonido como herramienta para la medición de la condición corporal, tiene la ventaja de ser más objetiva. La evaluación de la grasa dorsal en los ovinos se ha realizado entre la doceava y treceava costilla en los ovinos (Hamlin et al., 1995). La correlación observada de las mediciones realizadas en esta área es de 0.66 a 0.69 con respecto a las mediciones realizadas en canal (Greiner et al., 2003), la correlación encontrada por Silva et al., (2005) fue de 0.9 con una medición de grasa de 2.98 a 3.55 mm.

La condición corporal es resultado del buen estado nutricional y metabólico del animal, se ha observado que ovejas con condición de 3- 4, muestran mejor tasa ovulatoria y fertilidad (Viñoles et al., 2005), sin embargo cuando la hembras tienen pérdidas de peso disminuye la dinámica folicular e incrementa el periodo posparto, causando variaciones en la secreción de gonadotropinas (Meikle et al., 2004), aunado a un desbalance en la condición corporal se observan cambios negativos en el desarrollo fetal (Thomas et al., 2001). Por lo que este es un parámetro que debe ser considerado al iniciar un programa reproductivo.

### **2.2.8 Fertilidad y prolificidad**

Existen diversos estudios que demuestran que la utilización de ácidos grasos poliinsaturados pueden afectar la fertilidad, altera el perfil de ácidos grasos del folículo y en el ganado incrementa la cantidad y tamaño folicular en las vacas (Zeron et al., 2001), la viabilidad del ovocito (Herrera et al., 2008), sin embargo otros demuestran lo contrario ya que en investigaciones realizados con ratones se encontró que las especies reactivas de oxígeno pueden incrementarse cuando se utilizan estos ácidos grasos con lo que se disminuye la viabilidad del ovocito hasta su desarrollo normal a blastocisto in vitro (Wakerfield et al., 2008).

Lo cual indica la necesidad de tener un manejo nutricional específico, ya que es clave para mejorar los parámetros reproductivos de los animales domésticos.

## **2.3 Generalidades de las grasas**

El término referido a grasas se emplea para referirse tanto a grasas como aceites. Ambas son constituyentes de las plantas y animales, y su función principal es el aporte de energía o aislante térmico. Ambos tienen la misma forma estructural, sin embargo difieren en las propiedades físicas y químicas. Los aceites son líquidos en el medio ambiente, en contraste con las grasas que tienen una consistencia semisólida o sólida a temperatura ambiente, teniendo en común la insolubilidad en el agua y solubilidad en solventes orgánicos. Dentro de la clasificación química tanto las grasas y los

aceites se clasifican dentro del grupo de los lípidos y constituyen un grupo numeroso dentro de estos (Chapman, 1992).

Los lípidos son sustancias que se encuentran en tejidos animales y vegetales, están compuestos de carbono, hidrogeno y oxigeno, y pueden actuar como transportadores de substratos en reacciones enzimáticas, componentes de membranas celulares, fuente y almacén de energía (Lodish et al., 2005).

Los lípidos también se clasifican en base a la propiedad de saponificación es decir si forman jabones con sosa o potasa. Dentro de los saponificables se encuentran los ácidos grasos, glicéridos, fosfogliceridos, esfingogliceridos, glicerolipidos y ceras. Los insaponificables son los terpenos, esteroides y prostaglandinas.

### **2.3.1 Ácidos grasos**

Los lípidos están constituidos por ácidos grasos, que son una cadena hidrocarbonada lineal larga con un extremo terminal carboxilo. Los ácidos grasos se diferencian por la longitud de cadena de átomos de carbono (entre 4 y 22) y el número de enlaces dobles que tienen. La gran mayoría de los ácidos grasos tanto de la dieta como del organismo contienen de 16 a 18 átomos de carbono. De acuerdo al número de dobles enlaces que contienen se clasifican como ácidos grasos saturados (si no contienen dobles enlaces), ácidos grasos monoinsaturados (si contienen un doble enlace) y ácidos grasos poliinsaturados (si contienen dos o más de dobles enlaces). Los ácidos saturados se caracterizan por ser sólidos a temperatura ambiente, los insaturados en suelen ser líquidos ya que su punto de fusión es más bajo (Enriquez et al., 2003).

Cuando hay un doble enlace en la cadena pueden presentarse dos formas de ácidos grasos en función de la disposición en el espacio de los átomos de hidrogeno unidos a los átomos de carbono de doble enlace:

Cis: cuando los dos átomos de hidrogeno se encuentran en el mismo lado del doble enlace. La mayoría de los ácidos grasos se encuentra en la naturaleza son de este tipo.

Trans: cuando se encuentran uno a cada lado.

Los ácidos grasos poliinsaturados se pueden clasificar en cuatro familias según en donde se encuentre el primer enlace en la cadena empezando a contar por el extremo del grupo metilo: n-3 ( $\omega$ -3), n-6 ( $\omega$ -6), n-7 ( $\omega$ -7), y n-9 ( $\omega$ -9) (Berg et al., 2008).

Los ácidos grasos de la familia n-7 se sintetizan a partir del ácido palmítico. Los de la familia n-9 del ácido esteárico. Estas dos familias no son consideradas como ácidos grasos esenciales ya que pueden sintetizarse en el organismo.

Los ácidos grasos n-3 y n-6 son considerados como esenciales, debido a que su ingesta es indispensable ya que no pueden ser sintetizados en el organismo en cantidad suficiente. Estos ácidos grasos tienen funciones específicas dentro del organismo, como es dar fluidez y elasticidad de las membranas celulares, expansión y contracción cuando es necesaria (Enríquez et al., 2003; Lodish et al., 2005).

El ácido linoleico pertenecen a la familia n-6, del cual posteriormente se puede sintetizar ácido araquidónico y el linolénico a la n-6 es precursor del ácido eicosapentanoico. Tanto el ácido linoleico y linolénico son constituyentes de membranas y tienen un papel importante en el transporte

de lípidos y en la actividad de ciertas enzimas lipoproteicas, además de ser precursores en la síntesis de los eicosanoides, los cuales incluyen a las prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos.

Los ácidos grasos esenciales son también fuente de otros que contienen veinte carbonos como el ácido eicoesapentanoico (EPA), hidroxieicosatrienoico y docosahexanoico (DHA).

Los eicosanoides son sustancias de tipo hormonal que regulan diversas funciones fisiológicas como la coagulación sanguínea, presión sanguínea, la contracción de la musculatura lisa y respuesta inmune (Stryer, 2001).

Los ácidos grasos cumplen diversas funciones metabólicas, pueden ser estructurales como fosfolípidos de membrana, formar parte de un segundo mensajero como el fosfatidilinositol, ser usados en la síntesis de prostaglandinas, o aportar el colesterol necesario para la síntesis de hormonas esteroideas (Lodish et al., 2005).

En la naturaleza se pueden encontrar ácidos grasos libres como el acético, el butírico y caproico, los cuales se encuentran en estado libre en la leche. En los mamíferos los ácidos grasos son de cadena lineal con un número par de carbonos como el laurico, palmítico y esteárico. Los ácidos grasos poliinsaturados que tienen más de una doble cadena en su molécula son clasificados en tres grupos en base a su estructura química: omega 3 (n-3), omega 6 (n-6), y omega 9 (n-9), donde la primera doble cadena está localizada en el carbono 3, 6 o 9 de la molécula de metilo. Debido a que los animales no pueden sintetizar el ácido linoleico (n-6) y linolénico (n-3), deben ser suministrados en la dieta ya que son esenciales para diversas funciones del organismo como el desarrollo cerebral, crecimiento, visión y reproducción (fig 1) (Berg et al., 2008).

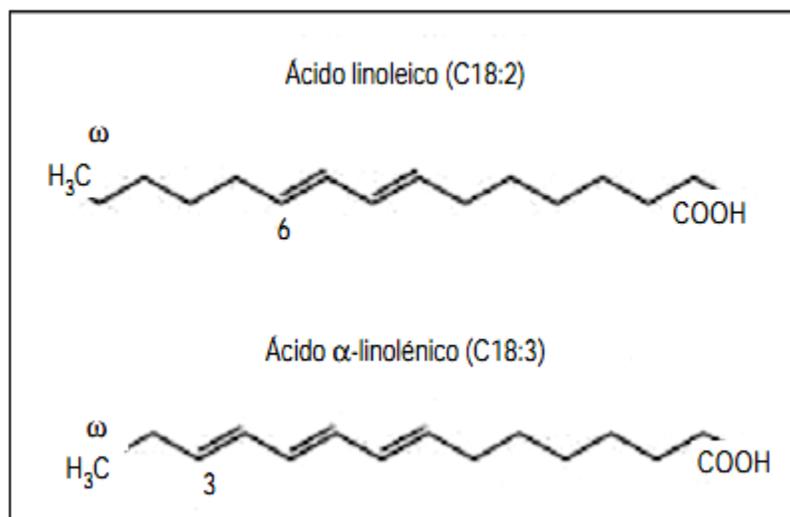


Fig 1. Estructura química de los ácidos grasos esenciales, ácido linoleico y linolénico.

### 2.3.2 Fuentes de grasas

La fuente principal de ácidos grasos en la dieta de los rumiantes son los forrajes y los granos de cereales, aunque el contenido de grasa de las dietas se puede aumentar usando suplementos de granos. Los suplementos se clasifican de acuerdo a su origen en animales, vegetales y mezclas. Dentro de las grasas de origen animal están las grasas poliinsaturadas (origen marino), grasas insaturadas (grasas de aves), moderadamente insaturadas (manteca de cerdo), saturadas (sebo de bovinos) y mezclas de las anteriores (Mateos et al., 1996).

Las grasas vegetales los aceites de semillas procedentes de girasol, maíz, soya son aun más insaturados que los de palma o coco. Existe otro grupo

generado por subproductos de la industria, dentro de estos están las oleínas (residuos del refinado de grasas comestibles), las lecitinas (gomas de los procesos del refinado de la industria), grasas de freidura (resultado del reciclado de grasas comestibles), los subproductos industriales y los destilados y los destilados procedentes de la industria del glicerol entre otros.

Desde el punto de vista fisiológico ruminal, los suplementos grasos en las raciones son clasificados de acuerdo al grado en que la grasa resiste a la biohidrogenación ruminal, según estos criterios se pueden clasificar las grasas como reactivas o inertes.

Las grasas reactivas interfieren con la fermentación microbiana en el rumen y reducir la digestibilidad de otros nutrientes. La fracción más susceptible es la fibra, deprimiendo en mayor grado la digestibilidad de la fibra, entre estas se encuentran las semillas o aceites de oleaginosas (algodón, soya, canola, girasol, entre otras). Las grasas de origen animal (saturadas) son menos reactivas y los subproductos con un contenido de grasa elevado. Estas grasas sufren el proceso de biohidrogenación por microorganismos ruminales y normalmente tienen poco impacto a la hora de modificar el perfil de ácidos grasos insaturados (Palmquist, 1996).

Las grasas inertes, denominadas también protegidas o by-pass son un grupo de productos que son caracterizados por tener un efecto inhibitorio mínimo sobre el metabolismo ruminal, con pocos o ningún efecto negativo sobre la digestibilidad del resto de los componentes de la ración. Esta protección se obtiene sin detrimento aparente de la digestibilidad intestinal, pudiendo modificar así el perfil de ácidos grasos en los tejidos. Estas grasas son consideradas inertes debido a que tienen un pKa bajo, por lo cual son poco solubles en el rumen a un pH normal. Las grasas existentes en el

mercado son de dos tipos los jabones cálcicos y las parcialmente hidrogenadas (Palmquist, 1996).

Las grasas protegidas son un medio para incrementar el consumo diario de grasas por parte del rumiante. El rumen puede tolerar el incremento de los índices de grasas saturadas si se administran con frecuencia a lo largo del día, siendo la cantidad normal de hasta unos 650 g. Las grasas protegidas permanecen inertes en el rumen y, por lo tanto, son digeribles en el tracto inferior y se pueden emplear para cubrir el espacio existente entre los 650 g antes mencionados y el índice óptimo equivalente a un 16-20% del consumo total diario de energía (Mateos et al., 1996).

### **2.3.3 Sales cálcicas de ácidos grasos**

En 1982 Palmisquist y col. realizaron la saponificación con sales de calcio de los ácidos grasos, originando de este modo la protección de las grasas. Este producto es una grasa inerte a nivel ruminal en donde no es afectado por la fermentación, siendo digerido posteriormente en el abomaso. A diferencia de las grasas, oleínas (triglicéridos, ácidos grasos libres) los jabones cálcicos no interfieren en el metabolismo del rumen. El jabón cálcico de ácidos grasos es insoluble en el rumen y resiste el ataque microbiano, no recubre la digestibilidad de la fibra en el rumen ni inhibe la acción de los microorganismos del rumen.

La mayoría de las sales cálcicas son fabricadas a partir de los destilados de palma, aunque también pueden provenir de aceites como el coco, pescado, girasol entre otros. Los jabones cálcicos de ácidos grasos de aceite de palma son una fuente totalmente fiable de grasa protegida en la fabricación de raciones para rumiantes. Son una combinación de ácidos grasos y calcio

que se encuentran unidos entre sí mediante enlace químico para formar una sal (fig2).

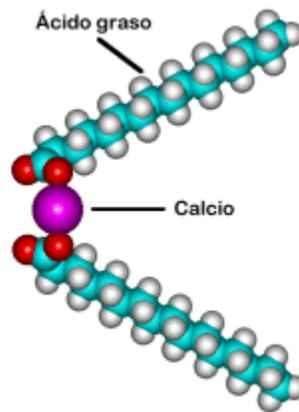


Figura 2.Unión de los enlaces de Calcio y aceite

La sal cálcica de ácidos grasos se disocia en el medio ácido del abomaso. Una vez hidrolizados, los ácidos grasos y el calcio pasan en forma libre al duodeno en donde se realiza su digestión y absorción. El coeficiente de digestibilidad de los ácidos grasos de los jabones cálcicos de aceite de palma es de 93-96% (Mateos et al., 1996).

Los jabones cálcicos resultan de la saponificación de ácidos grasos libres con iones de calcio. A un pH normal (>6) los jabones permanecen sin disociar, son insolubles en el líquido ruminal; sin embargo en el abomaso el pH disminuye por lo cual se disocian, dando lugar al calcio y ácidos grasos libres que son digeridos y absorbidos en el yeyuno. Los jabones cálcicos permiten una mayor proporción de ácidos grasos insaturados lleguen al intestino delgado, por lo cual la digestibilidad de las grasas aumenta. Se ha visto que los jabones cálcicos no afectan el metabolismo microbiano ruminal, sin embargo si existe un pH ruminal bajo puede existir una disociación

cálcica debido a este efecto, lo que puede afectar el metabolismo microbiano ruminal y la tasa de hidrogenación de los ácidos grasos que forman el jabón cálcico. Uno de los inconvenientes que tienen estos jabones es la baja palatabilidad y el alto contenido de calcio (Chouinard et al., 1998).

#### **2.3.4 Grasas hidrogenadas**

El proceso por el cual se obtienen las grasas hidrogenadas es a través de hidrogenación parcial de los dobles enlaces de la fuente lipídica con la finalidad de elevar el punto de fusión y de esta forma reducir la reactividad en el rumen por ser más insolubles. Las principales fuentes utilizadas son las oleínas, palma y sebo (con alto porcentaje de ácidos palmítico y esteárico), estas grasas tienen la característica de ser más estables debido a que son saturadas (Mattos et al., 1996).

Las semillas oleaginosas enteras (soya, girasol, semilla de algodón) tienen cierto grado de protección a la biohidrogenación debido a su cubierta externa dura que impide a los microorganismos ruminales puedan acceder a los ácidos grasos, sin embargo este grado de protección puede ser afectado debido a las técnicas de extrusión o molienda, así como la masticación y la rumia, lo cual expone a los ácidos grasos a la población microbiana y por tanto sufren biohidrogenación, de manera que el perfil de ácidos grasos que llega al intestino sea diferente al que ofrecen las semillas de manera inicial. Estas semillas pueden contener altos niveles de ácidos grasos insaturados como el ácido linoleico y linolénico.

Los vegetales contienen bajas cantidades de lípidos pero si mayores en ácidos grasos esenciales. El ácido linoleico es abundante en aceites vegetales como el de maíz y semillas de girasol. Las hojas de las plantas

forrajeras pueden contener entre el 3- 15 % de lípidos, algunos están presentes en forma de lípidos superficiales (denominados ceras) o como componentes estructurales de las células de las hojas. Los lípidos predominantes en esta forma son los fosfolípidos y glucolípidos.

La mayor cantidad de lípidos presentes se encuentran lípidos celulares e incluyen a los fosfolípidos y glucolípidos de membrana (incluyen a los galactolípidos) ricos en ácidos grasos esenciales. Los lípidos de superficie como las ceras y la cutina carecen de valor nutricional. Los forrajes verdes tienen un contenido ácidos grasos de 8-10% de MS. El contenido de lípidos de los concentrados es generalmente mayor que el de los forrajes y la mayor parte de ellos está presente en forma de triglicéridos. En los ácidos grasos de los forrajes abundan el ácido linoleico y linolénico, mientras que las semillas oleaginosas usadas en los concentrados contienen ácido linoleico y oleico. Los aceites vegetales y de origen de pescado son considerados como insaturados debido a que presentan cantidades variables de ácido oleico y linolénico. Los aceites de pescado contienen DHA y EPA (Palmquist, 1996).

Todas las fuentes grasas poseen ácidos grasos de cadena larga mientras que las principales fuentes de ácidos grasos de cadena media son semillas de algodón y los aceites de palma. Las principales fuentes de ácido linoleico son la semilla de linaza y los forrajes verdes aunque estos lo tienen en pocas cantidades.

La suplementación con lípidos es una estrategia utilizada para aumentar la densidad energética de las hembras rumiantes, con la finalidad de promover la síntesis hormonal, esteroidogénesis folicular y luteal, producción de prostaglandinas así como de potencializar la producción de factores de

crecimiento como IGF-I involucrados en el desarrollo folicular (Stapples et al., 1998).

### **2.3.5 Digestión ruminal de los ácidos grasos**

Las grasas dentro del rumen sufren diversos cambios estructurales debido al metabolismo, por lo que existe una diferencia entre el perfil de ácidos grasos de la dieta (insaturados) y el que abandona el rumen (saturado).

La biohidrogenación que ocurre en el rumen reduce la cantidad de ácidos grasos que llegan al intestino delgado. Los microorganismos ruminales modifican los lípidos consumidos, los cuales sufren cuatro pasos a nivel ruminal: hidrólisis de los enlaces ester de los lípidos (o lipólisis), biohidrogenación, síntesis (de ácidos grasos realizada por las bacterias de novo a partir de precursores carbonados) y saponificación de los ácidos grasos (Bauman et al., 2003).

La hidrólisis de los lípidos es causada por lipasas extracelulares bacterianas, ubicadas en la superficie de los microorganismos, este proceso ocurre en los enlaces ester de los triglicéridos, fosfolípidos y glicolípidos. Los principales productos de este proceso son los ácidos grasos y glicerol, además de alcoholes aminados (derivados de los fosfolípidos y galactosa). Estos dos últimos son metabolizados y convertidos a ácidos grasos volátiles (AGV), los cuales son absorbidos a través de la pared ruminal (Bauman et al., 2003).

La hidrogenación microbiana o biohidrogenación ocurre en los ácidos grasos insaturados, por bacterias que se adhieren al alimento y afecta al 70-90% de estos, el resto es incorporado al soma bacteriano, que posteriormente son

fuentes de ácidos grasos para los rumiantes al ser absorbidos en el intestino delgado.

A su vez la biohidrogenación está influenciada por la cantidad de ácidos grasos poliinsaturados que llegan al rumen y por el pH ruminal. Cuando el pH ruminal es bajo existe una inhibición del crecimiento bacteriano (encargadas de la biohidrogenación), por lo que existe una mayor cantidad de metabolitos intermedios. Debido a que el pH del rumen es ácido los lípidos sufren un proceso de saponificación, formando jabones de calcio y magnesio, de esta forma abandonan el rumen.

El proceso de síntesis de ácidos grasos de cadena impar y ramificada lo realizan los microorganismos ruminales, además modifican los ácidos grasos proporcionados en la dieta. Tanto los protozoos y las bacterias realizan una síntesis de novo de ácidos grasos de cadena larga, esta síntesis generalmente es moderada, aunque se puede incrementar cuando la dieta contiene pocos lípidos. Las bacterias y los protozoos del rumen incorporan ácidos grasos de la dieta a las membranas celulares (las cuales contienen lípidos) y esto inhibe la síntesis de novo, por lo que al proporcionar una dieta rica en grasa (principalmente aceites vegetales y de pescado) reducen la síntesis microbiana de ácidos grasos. Los microbios ruminales no almacenan lípidos en forma de triglicéridos, los ácidos grasos presentes son principalmente fosfolípidos de membrana o ácidos grasos libres.

### **2.3.6 Digestión y absorción intestinal de los ácidos grasos.**

En los animales rumiantes la mayor parte de la grasa aportada en la dieta suele llegar al intestino delgado en forma de ácidos grasos no esterificados,

altamente insaturados y ligados en forma no iónica en complejos insolubles. El pH presente en la ingesta que fluye del abomaso es bajo y se mantiene en esta forma a través de la primera parte de su recorrido por el intestino delgado debido a la limitada actividad tampón de las secreciones pancreáticas que presentan niveles bajos de bicarbonato. Como consecuencia los ácidos grasos son ionizados con este pH y los jabones de ácidos grasos insolubles en el rumen son solubilizados, aumentando tanto la absorción de ácidos grasos como de minerales.

### **2.3.7 Disponibilidad de grasas.**

Los lípidos de los forrajes se encuentran principalmente en forma de ácidos grasos poliinsaturados esterificados. En esta forma representa un 2.5% de la materia seca en la dieta. El contenido en ácidos grasos de cereales, semillas oleaginosas y grasas libres es variable y se encuentran en forma de triglicéridos. Los lípidos predominantes en las plantas que almacenan energía en forma de hidratos de carbono como cereales son estructurales.

Las células pueden obtener energía por la oxidación de diferentes compuestos como los monosacáridos, ácidos grasos o aminoácidos, la principal fuente de energía para los tejidos es la glucosa (única para el tejido nervioso), aunque los rumiantes poseen una glicemia inferior a los no rumiantes. La mayor parte de la glucosa consumida por los rumiantes es transformada a AGV en el rumen, y la cantidad que llega intacta al intestino y que es absorbida es limitada, esta fracción únicamente cubre los requerimientos de mantenimiento de los animales. Estas características de los animales hacen que deben sintetizar glucosa a partir de otros compuestos no glúcidos a través de la gluconeogénesis.

El hígado es el principal órgano formador de glucosa y puede sintetizar entre un 85-90% del total cuando se emplean dietas ricas en fibra, utilizando como sustrato al propionato, lactato, aminoácidos y glicerol. Este último es liberado por el tejido adiposo durante la lipólisis, para posteriormente ingresar al ciclo gluconeogenético. Tanto los monosacáridos, aminoácidos y ácidos grasos representan una fuente de reservas de energía para asegurar un aporte de glucosa al cerebro. El balance energético positivo del organismo se instaura en un estado de anabolismo del animal, este esquema metabólico está dirigido por la hormonalmente por la insulina.

Los lípidos que llegan al intestino delgado provienen del proceso de fermentación ruminal y biohidrogenación ruminal. En el intestino los ácidos grasos se disocian, dejando de esa forma una molécula bipolar con un extremo hidrófobo y otro hidrofílico, esta característica de los ácidos grasos y las sales biliares producen micelas, las cuales son absorbidas a nivel intestinal. La presencia de estos en la luz intestinal incrementa la secreción de enzimas como la colecistoquinina, la cual aumenta la secreción pancreática, disminuyendo la movilidad gastrointestinal, así como estimular la contracción de la vesícula biliar, con lo que se segregan más ácidos biliares causando la absorción de los lípidos.

Los ácidos grasos que poseen menos de 14 carbonos pueden pasar de forma directa a la circulación portal y los más largos son re-esterificados como triglicéridos y pasan a la vía glucolítica. Los enterocitos son los encargados de enviar a los triglicéridos a la circulación, sin embargo bajo esta estructura son insolubles, por lo cual deben sintetizarse proteínas que sirvan como transporte, denominadas lipoproteínas (estructuras de núcleo liposoluble rodeada de una capa proteica hidrosoluble constituida principalmente de aminoácidos como la metionina y lisina; Aubeiron et al., 1995). Estas lipoproteínas están constituidas por proteína colesterol libre y

fosfolípidos, las cuales son sintetizadas en el intestino y de acuerdo a su densidad son clasificadas como quilomicrones y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), se ha visto que en el caso de los rumiantes las VLDL son las que se encuentran en el quimo, teniendo una relación en los ovinos de 3:1 con respecto a las VLDL: quilomicrones, cuando en el intestino existe una mayor cantidad de ácidos grasos poliinsaturados. Las VLDL ingresan vía linfática y alcanzan la circulación general. El hígado también puede sintetizar VLDL, las cuales se encargan de aportar los ácidos grasos a los tejidos periféricos extra hepáticos, debido a esto son las más rápidamente utilizadas y representan solo el 1-4 % de las circulantes.

La captación tisular ocurre por la acción de las lipoproteinlipasas, encontradas en el endotelio vascular de aquellos tejidos que emplean este tipo de ácidos grasos para su obtención de energía o depósito. De la acción de estas proteínas sobre los quilomicrones quedan partículas residuales con proteínas, ésteres de colesterol y fosfolípidos, las cuales son captadas por el hígado. Las VLDL por acción de las lipoproteinlipasas son convertidas a lipoproteínas de baja densidad (LDL), en esta forma representa una fuente de colesterol para los tejidos. Por otra parte las lipoproteínas de alta densidad (HDL), sintetizadas en el hígado e intestino tienen la función de movilizar el exceso de colesterol de los tejidos extra hepáticos al hígado, para ser eliminados a través de la bilis.

### CAPITULO III. JUSTIFICACIÓN

Una forma de mejorar el comportamiento reproductivo de los ovinos, es la extensión de la vida productiva, a través del alcance de edad a la pubertad y edad al primer parto. Existen diversos factores metabólicos involucrados en la modulación de la edad a la pubertad como son la suplementaron con ácidos grasos poliinsaturados, grasa corporal y leptina entre otros (Boulanouar, 1997).

Little y Kay (1979) indicaron que cuando se incrementaron las tasas de crecimiento en novillas pre púberes, se disminuyó la edad a la concepción, edad al primer parto y primera lactación. Así, los estudios de los procesos fisiológicos relacionados a la pubertad en los rumiantes, han dado muestra de la importancia del consumo de nutrientes en la dieta, sobre la maduración sexual. La pubertad está marcada por el inicio de la actividad sexual, la progesterona es una hormona esteroide producida por el cuerpo lúteo (el cual se origina después de la ovulación), a partir del colesterol por lo que es de interés establecer la relación entre la cantidad de colesterol circulante, lipoproteínas y producción de progesterona.

En la actualidad la investigación se ha enfocado a tratar de entender como la grasa o ácidos grasos influyen en el comportamiento reproductivo de los rumiantes. Staples y colaboradores (1998) indicaron que no se han dilucidado los mecanismos por los cuales los ácidos grasos en la dieta, o como suplemento, han mejorado los mecanismos reproductivos en las hembras rumiantes, sin embargo se ha hipotetizado que el efecto positivo de estas, ha sido a través de aminorar el estado energético negativo en los animales bajo esa condición, incrementando de esta manera la

esteroidogénesis del folículo y cuerpo lúteo, promoviendo por lo tanto el desarrollo folicular y lútea.

En rumiantes, se han realizado estudios los cuales indican que la suplementación de ácidos grasos en la dieta, puede mejorar la eficiencia reproductiva. En vacas se encontró que la suplementación con grasa en la dieta, incremento el nivel de progesterona en suero sanguíneo, la concentración de colesterol en suero y líquido folicular, en las células luteales grandes y pequeñas (Williams, 1989; Hightshoe et al., 1991; Ryan et al., 1992).

Diversas investigaciones han demostrado que existe una fuerte interacción entre la condición corporal y producción de leptina, la cual a su vez tiene una estrecha relación con el inicio de la pubertad, motivo por el cual se pretende determinar si la suplementación con ácidos grasos en la dieta mejoran la tasa de crecimiento en corderas pre púberes y a su vez esto permita que alcancen la pubertad al año de ser paridas.

## **CAPITULO IV. HIPOTESIS**

La adición de ácidos grasos en la dieta, mejoran la tasa de crecimiento y disminuye la edad de inicio de la pubertad de las corderas.

La elaboración de jabones protegidos con sales calcio de aceites de cártamo, canola, soya, girasol, maíz y ajonjolí, pueden ser elaborados a diferentes temperaturas sin que su calidad sea afectada por en el proceso.

## **CAPITULO V. OBJETIVOS**

### **General**

Evaluar el efecto de la adición de grasas protegidas a la dieta sobre la edad a la pubertad de las corderas.

### **Específicos**

Determinar si la adición de grasa en la dieta mejora la tasa de crecimiento de corderas pre púberes, y como consecuencia disminuya el tiempo de alcance a la pubertad.

Establecer la relación entre las lipoproteínas de alta densidad y colesterol con la progesterona, grasa corporal y leptina de las corderas.

Elaborar jabones de calcio a diferentes temperaturas utilizando sales de calcio para proteger el aceite de canola, cártamo, soya, maíz, ajonjolí y girasol, para la alimentación de rumiantes.

## **CAPITULO VI. METODOLOGIA**

Los experimentos serán realizados en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, en la posta zootécnica de la Universidad Autónoma del Estado de México. El análisis de lipoproteínas se realizará en el laboratorio de bromatología de la facultad. La determinación de progesterona, leptina e insulina se llevaran a cabo en INIFAP de microbiología ubicado en Palo Alto. El análisis de la proporción de energía se realizó en el CENID Fy MA ubicado en Ajuchitlán, Querétaro. El financiamiento se obtuvo a través de un proyecto aprobado por el PROMEP e Innovación y desarrollo tecnológico de la UAEM.

## **CAPITULO VII. RESULTADOS**

Los resultados se presentan en un artículo científico enviado, una comunicación corta aceptada con correcciones, en el formato de acuerdo a las normas editoriales de las revistas.

Artículo enviado: Efecto de la adición de grasa protegida en la edad de inicio de la pubertad de corderas Suffolk

Comunicación corta aceptada con correcciones: Characteristics of calcium soaps from different oil sources.

## CAPITULO VIII. Efecto de la adición de grasa protegida en la edad de inicio de la pubertad de corderas Suffolk



ISSN 0717-6201 versión en línea  
ISSN 0301-732X versión impresa

20 de enero de 2014

Ref: AMV-0114-023.

**Profesor Nazario Pescador Salas**

Hago referencia a su artículo **Efecto de la adición de grasa protegida en la edad de inicio de la pubertad de corderas Suffolk**, recibido por Archivos de Medicina Veterinaria para su evaluación con el número AMV-0114-023.

Para seguimiento contactar a la Ing. Claudia Cárdenas A. asistente editorial de esta revista con la referencia mencionada arriba.

**Atentamente,**

+HNr3hgg0uDWUPlgExAezjYxywQ4YY+baKPY+  
Documento firmado electrónicamente

**Gustavo Monti, M.V., MgSc, PhD**  
**EDITOR**

Claudia Cárdenas A., Ing. Agr.  
Asistente editorial

**Universidad Austral de Chile**  
**Facultad de Ciencias Veterinarias**

*Isla Teja s/n*  
*Casilla 567*  
*Valdivia - Chile*

*Tel.: (56-63) 221459*  
*Fax: (56-63) 221354*

**Efecto de la adición de grasa protegida en la edad de inicio de la pubertad de  
corderas Suffolk<sup>#</sup>**

**Effect of addition of protected fat in the age of onset of puberty in Suffolk lambs**

A ROMERO-DÁVILA<sup>a</sup>, E VILLAGOMEZ-AMEZCUA<sup>b</sup>, L OLIVARES-REYNA<sup>a</sup>,  
JIMENEZ- SEVERIANO H<sup>c</sup>, GONZALEZ- RONQUILLO M<sup>a</sup>, PESCADOR-  
SALAS N<sup>\*a</sup>.

<sup>a</sup>Profesor, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma del  
Estado de México. Toluca. Estado de México.

<sup>b</sup>Investigador, Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Microbiología,  
Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Distrito  
Federal, México.

<sup>c</sup>Investigador, Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y  
Mejoramiento Animal, Instituto Nacional de Investigación Forestal Agrícola y  
Pecuaria, Querétaro. México.

<sup>#</sup>Proyecto financiado por el Programa de mejoramiento del Profesorado PROMEP/  
103.5/07 2572. México

\*Universidad Autónoma del Estado de México. Facultad de Medicina Veterinaria y  
Zootecnia. Instituto Literario 100 Ote. Toluca. Estado de México. 50000.

[npescadors@uaemex.mx](mailto:npescadors@uaemex.mx)

## SUMMARY

Nutrition and body condition are directly related to the onset of puberty, energy from polyunsaturated fatty acids (PUFA) into diet can promote the onset of puberty. The objective was to evaluate the effect of the addition of calcium salts AGP (Megalac® -R) to the diet on the age of onset of puberty in Suffolk lambs. A completely randomized design with 21 ewe lambs were used. It provided a comprehensive diet and added Megalac® -R: T1 (n = 7) 0%, T2 (n = 7) 3% and T3 (n = 7) 6%. Age at puberty (days) was estimated when lambs reached 1ng/ml of progesterone, measurements of leptin, insulin, and HDL cholesterol were compared to initiate puberty. Data were log<sub>10</sub> transformed and analyzed using PROC GLM of SAS, the statistical differences were subjected to a Tukey test (p < 0,05). The results of the age of onset of puberty showed that there are statistical differences between treatments T1: 219,01 ± 6,14<sup>a</sup>, T2 : 152 ± 7,31<sup>b</sup> y T3: 149± 7,04<sup>b</sup> days, weight 41,53 ± 1,11<sup>a</sup>, 42,45 ± 1,35<sup>a</sup> and 52,96 ± 1,44<sup>b</sup> ( p < 0,0001 ), respectively . Serum cholesterol ( T1: 2,18<sup>a</sup> , T2 : 2,24<sup>ab</sup> and T3: 2,41<sup>b</sup> ) and HDL ( T1: 1,43<sup>a</sup> , T2 : 1,94<sup>ab</sup> and T3: 2,34<sup>b</sup> ) show differences (P < 0,0001). The results of leptin and insulin showed no difference in the onset of puberty (P > 0,05 ). In conclusion the results show that the addition of PUFA decreased age of puberty of Suffolk lambs.

Key words: fat protected, puberty, female lambs.

## INTRODUCCIÓN

Una manera de favorecer la eficiencia reproductiva de los animales es el inicio temprano de la pubertad. La habilidad de las corderas para alcanzar la pubertad está determinada por diversos factores incluyendo la genética, la edad, el tamaño corporal, la nutrición, la época del año del nacimiento y el fotoperiodo (Scaramuzzi y Martin 2008). Las ovejas que han nacido en primavera tienen mayor oportunidad de alcanzar la pubertad al finalizar el primer año, que otras nacidas en diferente época del año. La mayoría de los corderos alcanzan la pubertad entre los 5 y 12 meses de edad, siendo los animales de lana gruesa los que tardan más en llegar a la pubertad. Las señales hormonales y metabólicas juegan un papel importante en la determinación de la pubertad, ya que regulan el crecimiento corporal, por ejemplo, leptina e insulina son indicadores del estado nutricional cuya señal actúa a nivel hipotalámico, el que a su vez regula la secreción de hormonas involucradas en la reproducción (Gamba y Pralong 2006). Las ovejas que tienen un rápido crecimiento alcanzan más rápido la pubertad, es decir un 60% de su peso corporal final, a su vez esto se basa de forma directa en el estado energético de los animales, los cuales, cuando se encuentran desnutridos alcanzan la pubertad tardamente. La ingesta de energía parece ser el principal determinante de la reproducción de los rumiantes y los jabones de calcio son una fuente alta de energía disponible para los animales además de su alto contenido de ácidos grasos (Palmquist 1994). El presente trabajo se realizó con la finalidad de evaluar el efecto de la adición a la dieta de grasa protegida con jabones de calcio en la etapa prepuberal y el inicio de la pubertad de corderas Suffolk a través de la evaluación del cambio de peso, grasa dorsal, concentración sérica de progesterona, leptina, insulina, colesterol y lipoproteínas de alta densidad.

## MATERIAL Y METODO

El presente estudio fue realizado en la posta zootécnica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México, ubicada a 19° 14' latitud norte y 92° 42' longitud oeste con una altitud de 2611 msnm, del 15 de septiembre al 30 noviembre.

**Animales:** Se utilizaron 21 corderas Suffolk prepúberes de cuatro y cinco meses de edad, nacidas en la época de primavera, las cuales fueron asignadas a cada uno de los tres tratamientos (n=7) de forma aleatoria y mantenidas en estabulación durante el experimento. Antes de iniciar con el trabajo experimental se realizó un manejo sanitario que consistió en desparasitación y bacterinización contra *Pasteurella*. Se proporcionó una dieta integral durante 50 días (considerando un periodo de adaptación de 2 semanas) con base a los requerimientos establecidos por el National Research Council, USA (NRC, 1996) de acuerdo a su edad y peso, siendo esta dieta isoprotéica. La dieta se formuló con los siguientes ingredientes: alfalfa achicalada 10%, rastrojo de maíz 21%, sorgo 54%, canola 12%, vitaminas y minerales 2.5%. De acuerdo al tratamiento asignado se adicionó grasa protegida de jabones de calcio: Megalac-R ® (Church&Dowling Co. Princeton, NJ) a los tratamientos: T1 (n=7) testigo dieta integral 0% grasa protegida, T2 (n=7) 3% grasa y T3 (n=7) 6% grasa (Palmquist 1994, Hervas y col 2008).

La cantidad de alimento proporcionado a los animales fue calculado con un 3,5% de pv (1,7 Kg/cordera/día) y se ofreció por grupo de corderas.

El cambio de peso de los animales se registró al iniciar el experimento y cada 15 días, y se realizaron tres mediciones de grasa dorsal a nivel de la 12<sup>a</sup> y 13<sup>a</sup> vertebra torácica, al iniciar el experimento y posteriormente cada 30 días con un equipo de ultrasonido SDS 500 marca Aloka con transductor lineal de 2,5 MHz de frecuencia (Cavadezy col 2000).

**Muestreo de sangre:** De manera individual se tomaron muestras de sangre en tubos de 10 ml de la vena yugular sin anticoagulante, antes de iniciar el experimento y posteriormente cada semana durante el periodo de administración de la dieta. Las muestras fueron centrifugadas a 2000 rpm a 2°C durante 10 minutos y el suero colectado fue almacenado a -20°C para su análisis posterior.

**Análisis de hormonas y metabolitos lipídicos:** Las concentraciones de Progesterona, insulina y leptina se analizaron por RIA utilizando el sistema de doble anticuerpo (Millipore, USA). La concentración de colesterol y HDL se determinó por espectrofotometría a través del método de colorimetría enzimático, utilizando un paquete de diagnóstico (Spinreac, Inc), de acuerdo a las instrucciones del fabricante. El inicio de la pubertad de las ovejas fue estimada por la concentración sérica de progesterona cuando esta sea mayor a 1 ng/mL, lo que se considerara asociado con la existencia de un cuerpo lúteo funcional.

**Análisis estadístico:** Se utilizó un diseño completamente al azar. La edad a la pubertad de las corderas se estimó mediante un análisis de covarianza (ANCOVA) considerando los días transcurridos desde el nacimiento al inicio del experimento como covariable. Los datos obtenidos del cambio de peso fueron analizados por ANCOVA utilizando como covariable la medición inicial. Los datos obtenidos para los metabolitos lipídicos y hormonas al momento de inicio de la pubertad se transformaron a logaritmo base 10 y se analizaron con el PROC GLM de SAS. Las diferencias estadísticas se verificaron por una Prueba de Tukey (SAS, Inst.In., Cary, NC).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Evaluación de la edad a la pubertad**

Los resultados del efecto de la adición de grasa protegida a la dieta integral se muestran en la tabla 1, en donde se observa una disminución de la edad de inicio de la pubertad de las corderas del T2 y T3, 152 y 149 días respectivamente ( $P < 0,0001$ ),

así como una mayor ganancia de peso en el grupo 3, esto indica que la suplementación con grasa protegida puede disminuir el inicio de la pubertad y tiene un efecto directo sobre la ganancia de peso, ya que a menor edad el T3 tuvo mayor incremento de peso ( $P < 0,0001$ ).

La edad de inicio de la pubertad en la oveja se ha establecido alrededor de los 210 días en corderas nacidas en primavera (Knobil y Neill's 2006). El-Shahat y col. (2010) suplementaron en la etapa prepuberal a corderas con 3% de jabones de calcio e identificaron el inicio de la pubertad entre los 270-300 días de edad, cuando encontraron concentraciones de progesterona en suero mayores a 1 ng / mL durante dos semanas consecutivas. Bartlewski y col. (2002) en corderas Suffolk encontraron que la edad de inicio de la pubertad estaba alrededor de las 34 semanas con 49,9 Kg de peso; Dikerson (1975) reportó que las corderas Suffolk alcanzan la pubertad a los 230 ó 235 días con un peso de 50kg. Resultados similares se obtuvieron en el presente trabajo; sin embargo difieren de Aguade y col. (1987) quienes observaron que bajo condiciones normales las corderas Suffolk pueden alcanzar la pubertad a los  $239 \pm 18,5$  días con un peso de  $37,3 \pm 1,5$  Kg cuando nacen en otoño y de  $114,4 \pm 16,3$  días con un peso de  $28,3 \pm 1,6$  Kg cuando nacen en invierno.

Al realizar la evaluación de metabolitos lipídicos se observa una tendencia de incremento en la concentración sérica de colesterol y HDL en los tratamientos con inclusión de grasa protegida T2 y T3 con 3% y 6%, respectivamente ( $P < 0,0001$ ). Al suplementar con jabón de calcio, suponemos que el efecto de hiperlipemia que se produce, conduce a un aumento de la síntesis de hormonas esteroides por el ovario; ya que el colesterol en sangre es la fuente primaria para la esteroidogénesis de mamíferos. Lo anterior, toma sustento en los estudios de Hughes y col (2010) quien suplementando con grasa, incrementó la síntesis de progesterona mejorando así la fertilidad de las ovejas, así mismo la HDL se ha considerado como un sustrato esencial para la síntesis de esta hormona (Argov y col 2004). El incremento de colesterol y HDL en suero son metabolitos fundamentales para la función

reproductiva, lo que representa un beneficio adicional de la alimentación de ácidos grasos de jabones de calcio en el metabolismo general de las corderas. En el presente estudio se encontró que la suplementación con grasa protegida incrementa los niveles séricos de colesterol y HDL, lo que puede favorecer la síntesis de progesterona en las corderas.

La leptina e insulina presentaron un incremento al momento del inicio de la pubertad sin embargo no se encontraron diferencias entre los tratamientos ( $P > 0,05$ ) (Cuadro 2).

El efecto de la insulina está probablemente mediado a nivel hipotalámico, ya que la insulina estimula la secreción y la expresión de GnRH por las neuronas hipotalámicas la cual a su vez estimula la secreción de LH en ovejas (Gamba y Pralong 2008). La leptina es una hormona asociada a la condición corporal así como a las funciones reproductivas y tiene un importante efecto en el control de peso, metabolismo y reproducción de los animales (Al-Arazqi 2007). Dentro de las funciones reproductivas que desempeña se considera como una hormona que estimula la iniciación de la pubertad (Caro y col 1996), ya que se ha observado que puede iniciar el desarrollo del tracto reproductivo, esta hipótesis ha sido establecida debido a que en algunas especies dicha hormona se incrementa antes de la pubertad acelerando los eventos fisiológicos normales y llevando a la presentación de la misma (Foster y Nagatani 1999). La leptina juega un papel importante en la señalización de estado nutricional al eje central de la reproducción de los mamíferos y parece ser un factor permisivo en la iniciación de la pubertad. La expresión y secreción de leptina se correlacionan con la grasa corporal y son severamente afectadas por los cambios en el consumo de alimento. Por otra parte, la leptina aumenta la circulación durante el desarrollo puberal en los roedores, las hembras humanas y novillas, estimulando la liberación de GnRH, además de aumentar la liberación de LH (Ziebay col 2005).

### **Cambio de peso y medición de grasa dorsal**

La pubertad es un factor determinante en el comienzo de la actividad reproductiva de los animales. Los resultados obtenidos de la adición de grasa protegida a la dieta de las corderas del tratamiento 3 muestran un incremento de la grasa dorsal con respecto al tratamiento 1, sin embargo no se encontró diferencia en el T2 con respecto al T1 y T3, donde se observó una interacción positiva del tratamiento y el tiempo que duró el experimento. El cambio de peso registrado al iniciar el experimento y a su posterior finalización muestra una mayor ganancia de peso para el tratamiento 3 (Cuadro 3).

El inicio de la pubertad se puede asociar con una mejora en el crecimiento, como se indica por el aumento de peso corporal final, en el presente estudio el incremento de la grasa dorsal y peso corporal de las corderas suplementadas con grasa protegida fue mayor solo para el grupo T3, con respecto al grupo control.

El rápido crecimiento y desarrollo bajo condiciones favorables de las corderas en un corto periodo, da la posibilidad de adelantar la pubertad de las corderas lo cual permitirá ingresarlas al rebaño para iniciar con sus funciones reproductivas.

En conclusión, los resultados del presente estudio indican que la suplementación de ácidos grasos de jabones de calcio en la etapa prepuberal de las corderas Suffolk tiene efectos benéficos sobre el crecimiento y estado energético, disminuyendo la edad a la pubertad, así mismo se incrementó el perfil de metabolitos lipídicos los cuales son sustrato esencial en la formación de hormonas esteroideas.

### **RESUMEN**

La nutrición y condición corporal se encuentran directamente relacionados con el inicio de la pubertad, la adición de ácidos grasos poliinsaturados (AGP) a la dieta pueden favorecer el inicio de la pubertad. El objetivo fue evaluar el efecto de la adición de AGP de sales de calcio (Megalac®-R) a la dieta sobre la edad de inicio de

la pubertad de corderas Suffolk. Se utilizó un diseño completamente al azar con 21 corderas prepúberes. Se proporcionó una dieta integral y adicionó Megalac®-R: T1 (n=7) 0%, T2 (n=7) 3% y T3 (n=7) 6%. La edad a la pubertad se estimó en días, cuando las corderas alcanzaron 1ng/ml de progesterona, las mediciones de leptina, insulina, colesterol y HDL fueron comparadas al iniciar la pubertad. Los datos se transformaron a log10 y analizaron con el PROC GLM de SAS, las diferencias estadísticas se sometieron a una Prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ). Los resultados de la edad de inicio de la pubertad mostraron que existen diferencias estadísticas entre los tratamientos T1:  $219,01 \pm 6,14^a$ , T2:  $152 \pm 7,31^b$  y T3:  $149 \pm 7,04^b$  días, con el peso en kg fue de  $41,53 \pm 1,11^a$ ,  $42,45 \pm 1,35^a$  y  $52,96 \pm 1,44^b$  ( $P < 0,0001$ ), respectivamente. La concentración sérica de colesterol (T1:  $2,18^a$ , T2:  $2,24^{ab}$  y T3:  $2,41^b$ ) y HDL (T1:  $1,43^a$ , T2:  $1,94^{ab}$  y T3:  $2,34^b$ ) muestran diferencias ( $P < 0,0001$ ). Los resultados de leptina e insulina no mostraron diferencias al iniciar la pubertad ( $P > 0,05$ ). En conclusión los resultados obtenidos muestran que la adición de AGP disminuye la edad de inicio de la pubertad de las corderas Suffolk.

Palabras clave: grasas protegidas, pubertad, corderas.

### **Agradecimientos**

Los autores agradecen el financiamiento otorgado para la realización de esta investigación a través del PROMEP/ 103.5/07 2572.

### **REFERENCIAS**

Aguade PJP, AA García, TJ De Lucas. 1987. Determinación de la pubertad en corderos y corderas Suffolk nacidos en dos épocas, bajo las condiciones del altiplano mexicano. *TecPecMéx* 25, 302-308.

- Al-Azraqi AA. 2007. Effect of fasting on luteal function, leptin and steroids concentration during oestrous cycle of the goat in natural photo-status. *Anim Rep* 98, 343-9.
- Argov N, U Moallem, D Sklan. 2004. Lipid transport in the developing bovine follicle: messenger RNA expression increases for selective uptake receptors and decreases for endocytosis receptors. *Biol Rep* 71, 479-485.
- Caro JF, MK Sinha, JW Kolaczynski, PL Zhang , RV Considine. 1996. Leptin: the tale of an obesity gene. *Diabetes*45, 1455-62.
- Cavadez V, A Teixeira, R Delfa, S Rodrigues. 2000. Utilización de Ultrasonidos y el peso vivo para la predicción in vivo de la composición de la canal en corderos. *Producción Animal* 18, 165-168.
- Bartlewski PM, AP Beard, SJ Cook, NC Rawlins. 2002. Ovarian activity during sexual maturation and following introduction of the ram to ewe lambs. *Small Ruminant Research*43, 37-44.
- El-Shahat KH, NF Khaled, FI El-Far.2010.Influence of dietary calcium salts of long chain fatty acids supplementation on growth and onset of puberty in Rahmani ewe-lambs. *J of Applied Biological Sciences* 4, 13-17.
- Dickerson G. E. and Laster D. B. Heterosis and environmental influences on growth and puberty in ewe lambs. *J AnimSci* 1975; 41:1-9.
- Foster DL, SNagatani. 1999. Physiological perspectives on leptin as a regulator of reproduction:Role in timing puberty. *Biol of Rep* 60, 205-215.
- Gamba M, FP Pralong.2006. Control of GnRH neuronal activity by metabolic factors: the role of leptin and insulin. *Mol Cell Endocrinol* 25, 254-255:133-9.
- Hervas G, P Luna, AR Mantecon, N Castanares, MA de la Fuente, M Juarez, P Frutos. 2008. Effect of diet supplementation with sunflower oil on milk production, fatty acid profile and ruminal fermentation in lactating dairy ewes. *J Dairy Res* 75, 399-405.
- Hughes J, WY Kwong, D Li , AM Salter , RG Lea , KD Sinclair .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.

Knobil, Neill's. 2006. In: *Physiology of reproduction*. 2<sup>nd</sup>ed. Elsevier. USA.

National Research Council. 1996. Nutrient requirements of small ruminants. The National Academic Press, Washington DC, USA.

Palmquist DL. 1994. The role of dietary fats in efficiency of ruminants. *J Nutr* 124, 1377-1382.

Rosales-Nieto CA, MB Ferguson, CA Macleay, JR Briegel, DA Wood, GB Martin, AN Thompson. 2013. Ewe lambs with higher breeding values for growth achieve higher reproductive performance when mated at age 8 months. *Theriogenology* 80, 427-435.

SAS. SAS procedure users guide version 6. 3<sup>rd</sup>ed. SAS institute, INC., Cary, NC, USA.

Scaramuzzi RJ, GB Martin. 2008. The importance of interactions among nutrition, seasonality and socio-sexual factors in the development of hormone-free methods for controlling fertility. *Reprod Domest Anim* 43, 129-36.

Zieba DA, M Amstalden, GL Williams. 2005. Regulatory roles of leptin in reproduction and metabolism: a comparative review. *Domest Anim Endocrinol* 29, 166-85.

Cuadro 1. Efecto de la adición de grasa protegida sobre el inicio de la pubertad de las corderas Suffolk.

(Effect of addition of protected fat on onset of puberty in Suffolk lambs )

<b>TRATAMIENTO</b>	<b>Edad en días</b>	<b>EE</b>	<b>Cambio de peso</b>	<b>EE</b>
T1 control 0% grasa protegida	219.14 <sup>a</sup>	6.14	41.53 <sup>a</sup>	1.11
T2 3% grasa protegida	152 <sup>b</sup>	7.31	42.45 <sup>a</sup>	1.35
T3 6% grasa protegida	149 <sup>b</sup>	7.04	52.967 <sup>b</sup>	1.44

Diferentes literales en la misma columna indican diferencias significativas (P< 0.0001)

EE, error estándar de la media

Cuadro 2. Concentración de metabolitos lipídicos en corderas suplementadas con grasa protegida

Lipid metabolites concentration in ewe lambs after protected fat supplementation

Variable	T1	T2	T3	EE
Insulina	2.06	1.8	2.06	0.061
Leptina	1.19	1.03	1.03	0.13
Colesterol	2.18 <sup>a</sup>	2.24 <sup>ab</sup>	2.41 <sup>b</sup>	0.047
HDL	1.43 <sup>a</sup>	1.94 <sup>ab</sup>	2.34 <sup>b</sup>	0.17

Diferentes literales en la misma fila indican diferencias significativas (P < 0,05)

EE, error estándar de la media

Cuadro3. Efecto de la adición de grasa protegida sobre la medición de grasa dorsal a nivel de 12ª y 13ª costilla de las corderas al finalizar el periodo experimental.

(Effect of addition of protected fat on backfat measurement at of 12th and 13th rib of the lambs at the end of the experimental period.)

	TRATAMIENTO (TRT)				TIEMPO				VALOR DE P<		
	1	2	3	EE	1	2	3	EE	TRT	TIEMPO	TRT * T
GRASA DORSAL	0.6 <sup>a</sup>	0.64 <sup>ab</sup>	0.66 <sup>b</sup>	0.052	0.49 <sup>a</sup>	0.65 <sup>b</sup>	0.76 <sup>c</sup>	0.032	0.056	0.0001	0.0038
CAMBIO DE PESO	48.57 <sup>a</sup>	48.1 <sup>b</sup>	55.5 <sup>b</sup>	0.77					0.0269		

Tratamiento 1: sin inclusión de grasa protegida; T2: 3% de grasa; T3: 6% de grasa protegida.

Diferentes literales en la misma fila indican diferencias significativas (P< 0,05)

EE, error estándar de la media

## **CAPITULO IX. Characteristics of calcium soaps from different oil sources.**

Dear Dr. Manuel Gonzalez Ronquillo,

We have received final Editorial decision for your paper. Congratulation!!! Your paper has been accepted for publication in Annual Research & Review in Biology. You are requested to complete the Article Processing Charge payment formalities so that we can proceed for proof reading and publication.

Manuscript number 2013/ARRB/6932

Title of the Manuscript: A COMPARATIVE PROCEDURE OF CALCIUM SOAPS ENRICHMENT WITH DIFERENT FATTY ACIDS

We are pleased to inform you that 'SDI Discount Committee' has granted 80% discount for your paper. Please add extra US\$10 as payment gateway service charge. Therefore you need to pay  $US\$100 + US\$10 = US\$110$ .

We are using one of the world's most trusted and secured "PayPal" system. Our "SUBCENTRAL" (<http://www.sciencedomain.org/login.php>) is integrated with PayPal.

Please follow these steps to complete the payment

1. Use your email ID ([mrg@uaemex.mx](mailto:mrg@uaemex.mx)) and password to login in 'SUBCENTRAL'
  2. Go to "On process" tab
  3. Here you will get the link for payment beside your accepted manuscript. Click on the "Pay Now" link.
  4. You will be directed to secured "PayPal" payment gateway.
  5. On the top of the page you can see "SCIENCEDOMAIN international".
  6. Now login to your PayPal free account (If you don't have kindly spend 2 minute time to create this free account. Here sending money is free. In PayPal you can use any credit card of your faithful friend or relative. It is not necessary that the card should be on your name. Later you can pay to your friend or relative the amount. Some of our authors don't have personal credit card and they use their friend's card.) OR if you don't want to create the account just fill the information in the left hand side of the page.
  7. Follow the instruction and complete the payment and mail us.
- Should you need any assistance please do not hesitate to contact us.

## **Short Communication**

### **Characteristics of calcium soaps from different oil sources.**

**Anabel Romero Davila<sup>1</sup>, Jorge Antonio Calderon Aranda<sup>1</sup>, German Buendia Rodriguez<sup>2</sup>, Eugenio Villagómez-Amezcu<sup>3</sup>, Nazario Pescador Salas<sup>1</sup>, Manuel González Ronquillo<sup>1\*</sup>.**

*<sup>1</sup>Universidad Autónoma del Estado de México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Instituto Literario 100 Ote. Toluca. Estado de Mexico. 50000.*

*<sup>2</sup>Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal, Instituto Nacional de Investigación Forestal Agrícola y Pecuaria. Km1 carretera a Colón, Ajuchitlan, Colón, Querétaro. México.76280.*

*<sup>3</sup>Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Microbiología Animal, Instituto Nacional de Investigación Forestal Agrícola y Pecuaria. Km1 carretera México Toluca, Palo Alto, Cuajimalpa, Distrito Federal, México. CP 05110.*

\* Tel.: +52 722 2956642; fax: + 52 722 2965548

E-mail address: [mrg@uaemex.mx](mailto:mrg@uaemex.mx)

---

#### **ABSTRACT**

**Aims:** Fats producing reactivity in the rumen which is reduced when increase the fusion point of them, through partial hydrogenation of the double bonds of the lipids and affect the microbial crude protein synthesis in the rumen, so the saponification is an alternative method to avoid this effect.

**Study design:** To evaluate the energy content of the oils and soaps, was performed a completely randomized design. The experimental design for

assessing the soaps in terms of texture and the different temperatures was performed in a completely randomized design with 6 x 3 factorial arrangement, and 6 x 2 for the evaluation of pH.

**Place and Duration of Study:** Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Department of Animal Production, between May 2012 and February 2013.

**Methodology:** Canola, safflower, soybean, corn, sesame and sunflower oils, were hydrolyzed with NaOH and Ca salts at 60, 120 and 180 °C. Texture (Nw), pH was determined at 0 and 7 days, gross energy (GE, kcal / kg) of the oils and soaps were evaluated.

**Results:** The concentration of energy was higher for safflower oil ( $P < 0.001$ ), when evaluated safflower and canola as soap were higher energetically 30% ( $P < 0.001$ ) compared with the rest of the soaps. Sesame and sunflower soaps ( $P < 0.001$ ) were higher in texture compared with the rest of the soaps. There were no significant differences for the preparation of the soaps due to the temperature ( $P = 0.318$ ). As for the effect due to the time, pH was higher at day zero ( $P < 0.05$ ) compared to day 7.

**Conclusion:** The energy concentration of the oils and soaps varies depending on the source, without being affected by the processing temperature. Canola and safflower soaps had more energy than the rest of the soaps used.

*Keywords:* calcium soaps, oils, fat protected.

## 1. INTRODUCTION

The use of essential fatty acids (EFA, linoleic and linolenic acids) in the rumen protected for subsequent absorption in the intestine, is a potential mechanism for increasing the reproductive parameters of ruminants, including increases in sperm capacitation, number of oocytes or pregnant females [1], milk yield and carcass composition through the modification of the fatty acid profile [2,3,4]. Other studies on the use of fatty acids have focused on determining its effect on the fat deposition in beef [5, 6]. The development of a product that protects against rumen degradation EFA is of considerable economic interest.

The energy content of oils is higher than the more commonly employed grain and forages in animal feeds. The optimum concentration of soaps and oils recommended is 3% of the total diet, as a 6% inclusion can affect the total dry matter intake [7]. Hervas et al. [8] did not found a detrimental effect with inclusion of 6% sunflower oil in sheep diets. Inclusion of calcium soaps in ruminant feeding improves digestibility as this additive does not depress the microbial protein synthesis (MPS) [9]. Its use is recommended in animal production (growth or lactation) principally at the beginning of lactation or at the end of pregnancy, when there are elevated nutritional requirements, which can not be met by grain cereals or forages. In ruminants, the extensive

ruminal bio hydrogenation of unsaturated fatty acids (FA) is the result of numerous cis and trans isomers of 18:1 and 18:2 conjugated and non conjugated, their incorporation into the milk or meat of ruminants depends on the composition of the diet (forage vs concentrate ratio) and on the kind of the dietary lipids supplements, such as oils and calcium soaps. The low amount of 18:3 n-3 ( $\alpha$ -linolenic acid) absorbed by the digestive system in ruminants explains its modest incorporation into meat and milk lipids. Therefore, protection against hydrogenation of dietary lipids has been a goal for several decades, at present those that are encapsulated in a protein matrix are considered efficient. In non-ruminant (i.e. pigs), FA composition of the products is determined by the FA from the diet, although there are minor differences in digestibility and metabolic activity. These physicochemical differences in the processes of intestinal absorption between ruminants and non-ruminants may explain the lower FA digestibility in non-ruminants, especially for saturated FA. Unlike the non-ruminant digestibility of FA in ruminants do not depends of the FA intake, except for C18:0, due to the bio hydrogenation of lipids occurring at ruminal level, except the use of calcium soaps that does not affect their ruminal bio hydrogenation and can be absorbed in the intestine.

Milk contains a higher proportion of saturated fatty acids [10], which has a negative effect on the health due to the increase of cholesterol and increased incidence of cardiovascular disease (CVD) [11]. This has led to try to modify the fatty acid profile of the milk into a profile of polyunsaturated fatty acids (PUFA) using linoleic acid and linolenic acid as a precursor of eicosanoids, which in turn are related to the synthesis of prostaglandins, thromboxanes and leukotrienes having beneficial effects on plasma lipids of people with coronary cardiomyopathies, in cancer and rheumatoid arthritis [2,11]. The hydrogenation of fatty acids by ruminal bacteria convert polyunsaturated fatty acids in food saturated or unsaturated fatty acids with a smaller number of double bonds. This effect produced by rumen bacteria can be elucidated through the use of calcium soaps [7]. There are oils with a high content of linoleic and linolenic acid (canola, safflower, soybean, corn, sesame and sunflower), which can be saponified with calcium salts and be supplied in the diet of ruminants instead of oils, so in the present study calcium soaps were developed from different sources of oils rich in essential fatty acids and their energy concentration due to the effect of temperature on the development of them.

## **2. MATERIAL AND METHODS**

### **2.1 Development of protecting oils.**

The saponification process of the oils was performed by the double decomposition method [12], it was used oils with high content of essential

fatty acids (safflower, canola, sunflower, sesame, soybean and corn), and were evaluated at three temperatures for its elaboration (60, 120 and 180 ° C).

The preparation of the soaps were used per 100 ml of oil, 25 g of calcium chloride, 5 g of calcium carbonate, 30 ml alcohol, distilled water, sodium hydroxide at 30% depending on the type of oil to saponify between 132-137 g/ 100 ml oil. NaOH was prepared at the beginning of the process and the oil was heated at temperatures above prior to add the rest of the components.

## **2.2 Energy assessment of soaps and oils.**

The amount of energy content in the oils and soaps (1.0 g) was performed in triplicate for the samples processed at 120 °C by the method of the bomb calorimeter (model Parr 6400 Calorimeter) at 30kg f/cm<sup>2</sup> of pressure.

## **2.3 Determination of texture and pH.**

Calcium soaps was evaluated with a texture analyzer (Model TA-X T2 Stable Micro Systems). The cutting force was recorded in Newtons (Nw) and the height of cut was determined using a flat-tipped probe, the data were captured by the program Expend Exceed Texture Stable Micro Systems Version 2.63 for analysis and interpretation, the thickness was measured with a caliper to calculate the cutting distance of the probe and the following parameters were used for the texturometer calibration; cutting distance: 20mm; speed pre- essay: 2mm / s, test speed: 1 mm / s; load cell: 25 kg. Once developed calcium soaps, we proceeded to determine the pH with a potentiometer (model Conductronic pH130) at the end of the process (considered as day zero), and 7 days after.

## **2.4 Statistical Analysis.**

Statistical design to evaluate the energy content of the oils and soaps, was in a completely random design, having the following mathematical model.  $Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$ ; Where:  $Y_{ij}$  = response variable in j-th repetition, the i-th treatment,  $\mu$  = overall mean,  $T_i$  = effect of treatment,  $\varepsilon_{ij}$  = random error.

The experimental design for assessing the soaps in terms of texture and the different temperatures was performed in a completely randomized design with 6 x 3 factorial arrangement, and 6 x 2 for the evaluation of pH.  $Y_{ijk} = \mu + S_i + T_j + S \times T_{ij} + \varepsilon_{ijk}$ ; Where:  $Y_{ijk}$  = response variable in j-th repetition, the i-th treatment,  $\mu$  = overall mean,  $S_i$  = effect of the i-th treatment due to the soap treatment (n = 6),  $T_j$  = treatment effect i-th due to temperature treatment (n = 3) or in the case of the determination of the pH, effect due to the day sampling (n = 2),  $S \times T$ , due to the interaction effect soap x temperature (n = 18),  $\varepsilon_{ijk}$  = random error. To analyze the significant differences (P <0.05) was performed Tukey test [13].

### 3. RESULTS AND DISCUSSION

The present study developed a series of soaps from different oil sources, varying in fatty acid content. Table 1 shows the energy concentration (kcal / kg) of the oils used in this study, safflower oil was higher than sesame oil ( $P < 0.001$ ), while there no significant differences among the rest of the oils ( $P > 0.05$ ). The energy concentration of soaps was lower than oils (30%). The highest energy concentration in soaps ( $P < 0.001$ ) was for canola and safflower (designated 100%) followed by soybean (94%), corn (92%), sunflower (87%) and sesame (83%).

As shown in Table 1, the energy efficiency of soaps is less than 30% compared to the original oil source, showing differences between different oils and soaps, with higher energy content canola and safflower soaps compared with the rest of the soaps used.

Texture (Nw) was higher in sesame and sunflower soaps ( $P < 0.001$ ) than safflower and soybean soaps (Table 2), being higher canola than safflower soaps, concerning the effect of temperature for the preparation of soaps, no differences were observed between temperatures ( $P = 0.318$ ) and their interaction ( $P = 185$ ). The effect of the final temperature in the soaps (Table 2) was not different between soaps ( $P > 0.05$ ), temperature ( $P = 0.903$ ) and their interaction ( $P = 0.442$ ).

Table 3, showed the different pH obtained from calcium soaps, Canola, Soybean, and Corn soaps were higher ( $P < 0.05$ ) (pH 10.16) compared to Sesame (pH 9.38), and Sunflower (pH 8.27). The effect due to the time shows that the pH was higher at day zero ( $P < 0.05$ ) compared to day 7.

Recent studies focus on the use of calcium soaps derived from oils rich in MUFA / PUFA for food in ruminants [3] and promote their as an alternative to protect its from rumen degradation and pass to intestine absorption. Alexander et al. [15] evaluated the use of sunflower oil and soap in sheep, showing that the use of sunflower oil affect ( $P < 0.05$ ) intake and digestibility of the diet, mainly affecting the NDF degradation and hence the MPS, and concluding that sunflower soaps can be offered up to 10% without affecting the intake and digestibility in animals, in contrast Hervas et al. [8] when using sunflower oil in diets for sheep found no negative effects on dry matter intake and milk production up to 6% inclusion in the diet, allowing the use of oils in diets for sheep without affecting its production, and even enriching the profile of fatty acids (C18) in milk, but affecting negatively the milk protein excretion. Enjalbert et al. [4] compared palm and canola soaps, found no differences ( $P > 0.05$ ) in dry matter intake, milk production, however in the fatty acid profile of milk supplementation with C16:0 increased its flow into the

duodenum, but when the diet was supplemented with canola soaps increased in C18:0 in the duodenum. The excretion of C16:0 was higher when supplemented with palm soaps compared with canola soaps, however canola soaps supplementation increased excretion of C18:2-n6 and C18-trans1:n-7, an increase in overall C18 in milk compared with palm soaps.

Dureau et al. [5], evaluate different sources of flaxseed in the diet of dairy cows, the use of flaxseed oil (FO) or extruded flaxseed (EF) increases the flow of t10 and t11-18:1 in more than 60% when compared with the control group, so increasing the duodenal flow of unsaturated fatty acids from the rumen bio hydrogenation, being higher when administered FO and EF compared with the control group or when administered rolled flaxseed seed.

The handling and storage of liquid fat is not easy and promotes the degradation and oxidation. Polyunsaturated fatty acids are more susceptible to degradation than the saturated fatty acids and have a negative effect on ruminal metabolism. One option to increase the proportion of PUFA and increase the energy value in the diet of ruminants is to protect lipids of bacterial biohydrogenation. Calcium has been used to avoid hydrogenation and is not toxic to the ruminal flora, so it does not affect digestion [12], calcium also serves as a protector of oil, as it prevents the oxidation and degradation fats, therefore they are stable at room temperature and the lifetime of these can take years. It also does not require special equipment or storage, and being saponified allows grinding or pelletizing, optimizing handling and mixing in the diet of ruminants, in addition to being able to easily dissociate in acid pH.

The quality parameter used to evaluate calcium soaps is texture, which determine the shear force through the hardness (Nw), and is directly related to the mechanical properties of the soap, which gives us the point of grinding soaps. Texture (Nw) was higher in sesame and sunflower soaps ( $P < 0.001$ ) than safflower and soybean soaps (Table 2), being higher canola than safflower soaps, concerning the effect of temperature for the preparation of soaps, no differences were observed between temperatures ( $P = 0.318$ ) and their interaction ( $P = 185$ ). The effect of the final temperature in the soaps (Table 2) was not different between soaps ( $P > 0.05$ ), temperature ( $P = 0.903$ ) and their interaction ( $P = 0.442$ ).

Adebajo et al. [16] compared two methods for the preparation of palm oil, with significant differences in the effect of their properties and qualities between traditional methods and the method using electrical conductivity, noting that the purity of the oil influences their preparation and texture, in the present study there were no differences in processing temperatures between soaps, however if there is an effect ( $P < 0.05$ ) between different sources of oil, whereas all oils tested in this study come from commercial sources.

Pablos-Pérez [17] shows the development of calcium soaps with a temperature range of 100-150 °C, in this study we observed no differences ( $P < 0.05$ ) when working with temperatures in the range of 60 to 180 °C allowing greater scope for the development of the same, with the addition of NaOH and calcium, however Bjorklum and Wadsborn [18] show that temperature affects the solubility of lipids in the number of carbons present, showing no differences in solubility when tested at temperatures of 25 and 50 °C, however this is reduced ( $P < 0.05$ ) when determined at temperatures of 90 °C with a reduction of 25 to 30% of the solubility when temperature increases from 50 to 90 °C. Texture (Nw) was not affected ( $P > 0.05$ ) by the thermal process when working at 60 to 180 °C, which allows us to produce calcium soaps at 60 °C, however it is important to consider that this may be affected by pH and the concentration of the different fractions of  $\text{Ca}^{+2}$  and  $\text{CaCO}_3$ , will vary depending on the pH [18].

It is essential to maintain the pH of calcium soaps between 6.5 and 10.0, as this can affect the structure of fatty acids and their use in ruminant feed. The normal rumen pH 6.0 - 6.3, these soaps remain undissociated and are insoluble in the rumen fluid, therefore constitute inert fats. In abomasum the pH decreases to 2.0 - 2.5 so that dissociate, resulting in calcium and free fatty acids that are digested in jejunum. Calcium soaps allow a higher proportion of unsaturated fatty acids reach the small intestine, so that the intestinal digestibility of fat increases. Rumen digestion of fat includes hydrolysis and hydrogenation, which affect ingested fat up to 90 %. These observations could be related to a parallel increase in the acidity of rumen contents, since Demeyer and Van Nevel [19] found that lowering the pH from 6.3 to 5.2 linearly reduced linoleic acid release from soybean oil to less a third, so a pH of 6.35 which is considered optimum to ensure proper digestion of forages (20, 21). Table 3, showed the different pH obtained from calcium soaps, Canola, Soybean, and Corn soaps were higher ( $P < 0.05$ ) (pH 10.16) compared to Sesame (pH 9.38), and Sunflower (pH 8.27). The effect due to the time shows that the pH was higher at day zero ( $P < 0.05$ ) compared to day 7.

Bjorklund and Wadsborn [18] evaluate the effect of pH on pine calcium soaps, which are similar to this study for Canola, soybeans and corn soaps, showing that the pH may decrease if this is associated with  $\text{CO}_2$ ; However the higher concentrations or the better calcium soaps formation was in a pH range of 9.5 to 13.0, with the exception of Sunflower, but this is not affected for the formation of  $\text{CaCO}_3$  in a pH 7 to 13 [18], allowing us to form calcium soaps from the oils used in the present study.

**Table 1. Gross energy (GE) content (kcal / kg) of different oils and their respective soaps elaborated at 120 °C.**

Item	Canola	Safflower	Soybean	Sunflower	Sesame	Corn	SEM	<i>P</i> value
Oil (GE, kcal /kg)	9441 <sup>ab</sup>	9502 <sup>a</sup>	9396 <sup>ab</sup>	9434 <sup>ab</sup>	9181 <sup>c</sup>	9477 <sup>ab</sup>	20.45	0.001
Calcium soap (GE, kcal /kg)	6653 <sup>a</sup>	6648 <sup>a</sup>	6253 <sup>b</sup>	5806 <sup>d</sup>	5538 <sup>e</sup>	6116 <sup>c</sup>	20.89	0.001

SEM, Standard error mean

Different letters in the same row  $P < 0.001$ **Table 2. Effect of oil source and elaboration temperature on texture (Nw) and final temperature (T, °C) of calcium soaps.**

Item	Calcium soaps (CS)						Temperature (T)				<i>P</i> value		
	Canola	Safflower	SB	SFlower	Sesame	Corn	60	120	180	SEM	CS	T	CSxT
Texture (Nw)	50.5 <sup>ab</sup>	28.2 <sup>c</sup>	41.4 <sup>bc</sup>	57.1 <sup>a</sup>	33.2 <sup>a</sup>	50.0 <sup>ab</sup>	50.4	45.5	49.3	3.32	0.001	0.318	0.185
Final temperature	38.8	35.3	39.0	39.6	36.9	38.0	68.3	67.8	67.7	1.53	0.389	0.903	0.442

SB, Soybean; SFlower, Sunflower, SEM, Standard error mean.

<sup>abc</sup>Different letters in the same row  $P < 0.001$ **Table 3. Effect of oil source and time (days) after elaboration on pH of calcium soaps.**

Item	Calcium soaps (CS)						Day (D)			<i>P</i> value		
	Canola	Safflower	Soybean	Sunflower	Sesame	Corn	0	7	SEM	CS	D	CSxD
pH	10.02 <sup>ab</sup>	9.76 <sup>bc</sup>	10.36 <sup>a</sup>	8.27 <sup>d</sup>	9.38 <sup>c</sup>	10.16 <sup>ab</sup>	10.46 <sup>a</sup>	8.85 <sup>b</sup>	0.108	0.001	0.001	0.001

SEM, Standard error mean.

<sup>abc</sup>Different letters in the same row  $P < 0.001$

#### 4. CONCLUSION

The energy concentration of the oils and soaps varies depending on its source, as well as the texture of the soaps. The processing temperature of the soaps in the ranges of 60, 120 and 180 °C, was not affected by the original source of the oil, so that soap can be made at 60 °C.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

Authors thanks to funding provided by the project through Innovation and technological development, UAEM, 3060/2011. Mrs. Romero was granted for a CONACyT fellowship during his studies in the Autonomous University of the State of Mexico. We also thank Miss. Liz Hooper, LTC-University of North Texas for the critical review of the present manuscript.

#### COMPETING INTERESTS

Authors have declared that no competing interest exists.

#### REFERENCES

1. Gulliver CE, Friend MA, King BJ, Clayton EH. The role of omega-3 polyunsaturated fatty acids in reproduction of sheep and cattle. *Anim Rep Sci.* 2012; 131(1-2):9-22.
2. Tricon S, Burdge GC, Williams CM, Calder PM, Yaquob O. The effects of conjugated linoleic acid on human health-related outcomes. *Proc Nutr Soc.* 2005; 64: 171-182.
3. Chikunya S, Demirel G, Enser M, Wood JD, Wilkinson R G, Sinclair LA. Biohydrogenation of dietary n-3 PUFA and stability of ingested vitamin E in the rumen, and their effects on microbial activity in sheep. *Br J Nutr.* 2004;91:539–550.
4. Enjalbert F, Nicot MC, Bayourthe C, Vernay M, Moncoulon R. Effects of dietary calcium soaps of unsaturated fatty acids on digestion, milk composition and physical properties of butter. *J Dairy Res.* 1997;64:181-195.
5. Doureau M, Laverrou S, Normand J, Chesneau G, Glasser F. Effect of Linseed Fed as Rolled Seeds, Extruded Seeds or Oil on Fatty Acid Rumen Metabolism and Intestinal Digestibility in Cows. *Lipids.* 2009;44:53–62 DOI 10.1007/s11745-008-3250-x.
6. Sañudo C, Alfonso M, San-Julian R, Thorkelsson G, Valdimarsdottir T, Zygoiannis D, et al. Regional variation in the hedonic evaluation of lamb meat from diverse production systems by consumers in six European countries. *Meat Sci.* 2007;75:610-621.
7. Palmquist DL. The role of dietary fats in efficiency of ruminants. *Journal of Nutrition.* 1994; 137S:1384S.
8. Hervás G, Luna P, Mantecon AR, Castanares N, de la Fuente MA, Juarez M, Frutos P. Effect of diet supplementation with sunflower oil on milk

- production, fatty acid profile and ruminal fermentation in lactating dairy ewes. *J Dairy Res.* 2008;75: 399-405.
9. Casals R, Caja G, Such X, Torrez C, Calsamiglia S. Effects of calcium soaps and rumen undegradable protein on the milk production and composition of dairy ewes. *J Dairy Res.* 1999;66:177-191.
  10. Jenkis TC, McGuire MA. Major advances in nutrition: Impact on milk composition. *J Dairy Sci.* 2006;89:1302-1310.
  11. Hess BW, Moss GE, Rule DC. A decade of developments in the area of fat supplementation research with beef cattle and sheep. *J Anim Sci.* 2008;86:E188-E204.
  12. Jenkis TC, Palmsquist DL. Effect of fatty acids or calcium soaps on rumen and total nutrient digestibility of dairy rations. *J Dairy Sci.* 1984; 67:978-986.
  13. Steel RDG, Torrie JH, Dickey DA. Principles and Procedures of Statistics: A biometrical Approach. (3rd ed.). New York: Mc Graw-Hill Book Co. Inc;1997.
  14. Sanchez WK. Energy Barrier Breaker® Research Summary. Church & Dwight Co., Inc., 2001
  15. Alexander G, Rao Z, Prasad JR. Effect of supplementing sheep with sunflower acid oil or its calcium soap on nutrient utilization. *Asian Australasian J Anim Sci.* 2002;15(9):1288-1293.
  16. Adebajo MO, Akanni MS, Frost RL. Effect of Palm Kernel Oil Extraction Method on the Electrical Conductance of Nigerian Traditional Soaps in Alcohols. Paper no. S1316 in *JSD.* 2004;7:81-85.
  17. Pablos- Pérez E. Patent application title: Method for Producing Calcium Soaps for Animal Feed. 2009; Patent application number: 20090220638. Accessed 9 May 2013.  
Available: <http://www.faqs.org/patents/app/20090220638#b>
  18. Bjorklund JM, Wadsborn R. Equilibrium calculations for fatty acid calcium soaps in pulo washing. Report No. STFI-Packforsk. 2005;140:1-38.
  19. Demeyer DI, Van Nevel CJ. Transformations and effects of lipids in the rumen: Three decades of research at Ghent University. *Arch Anim Nutr* 1995; 48:119–134.
  20. Kolver ES, de Veth MJ. Prediction of ruminal pH from pasture-based diets. *J Dairy Sci* 2002;85:1255-1266.
  21. Wales WJ, Kolver ES, Thorne PL, Egan AR. Diurnal variation in ruminal pH on the digestibility of highly digestible perennial ryegrass during continuous culture fermentation. *J Dairy Sci* 2004;87:1864-1871.

## ABBREVIATIONS

CVD - Cardiovascular Disease; EF - Extruded Flaxseed ; EFA - Essential fatty acids; FA - Fat acid; FO - Flaxseed Oil; GE - Gross energy; MPS - Microbial protein synthesis; MUFA - Monounsaturated fatty acids; PUFA - Polyunsaturated fatty acids

## **CAPITULO X. CONCLUSION GENERAL**

En las condiciones en las que se efectuó el primer experimento, la adición de Megalac R® a la dieta los resultados obtenidos indican que la suplementación de ácidos grasos de jabones de calcio en la etapa prepuberal de las corderas Suffolk tiene efectos benéficos sobre el crecimiento, mejoro la condición corporal y estado energético, disminuyendo la edad a la pubertad, así mismo se incrementó el perfil de metabolitos lipídicos los cuales son sustrato esencial en la formación de hormonas esteroidales.

Al realizar la protección de los aceites para su posterior utilización en la alimentación de animales rumiantes se encontró que la concentración energética de los aceites y jabones varía en función de su fuente de origen, siendo superior los aceites de canola y cártamo con respecto a el aceite de ajonjolí, los jabones de canola y cártamo energéticamente son superiores a los jabones de soya > Maíz > Girasol seguidos de Ajonjolí. De igual forma la textura de los jabones es afectada por la fuente de origen, siendo superior los jabones cálcicos de Girasol y Ajonjolí con respecto a los jabones de soya y cártamo. Sin embargo no se encontró efecto de la temperatura para la preparación de los jabones en los rangos de 60, 120 y 180 °C, por lo que se pueden fabricar jabones a partir de los 60 °C.

## XI. REFERENCIAS

- Abecia JA , Sosa C, Forcada F, Meikle A. The effect of undernutrition on the establishment of pregnancy in the ewe. *Reprod. Nutr. Dev.* 2006; 46: 367–378.
- Ahima RS, Dushay J, Flier SN, Prabakaran D and Flier JS. Leptin accelerates the onset of puberty in normal female mice. *J Clin Inv* 1997; 9: 391-395.
- Argov N, Moallem U, Sklan D. Lipid transport in the developing bovine follicle: messenger RNA expression increases for selective uptake receptors and decreases for endocytosis receptors. *Biol Rep* 2004; 71: 479-485.
- Azraqi AA. Effect of fasting on luteal function, leptin and steroids concentration during oestrous cycle of the goat in natural photo-status. *Anim Rep* 2006;
- Bao B, Garverik HA, Smith GW, Smith MF, Salfen BE, Youngquist RS. Changes in messenger ribonucleic acid encoding luteinizing hormone receptor, cytochrome P450- side chain cleavage and aromatase are associated with recruitment and selection of bovine ovarian follicles. *Biol Reprod* 1997; 1158-1168.
- Barash IA, Cheung CC, Weigle DS, Ren H, Kabigting EB, Kuijper JL, Clifton DK, Steiner RA. Leptin is a metabolic signal to the reproductive system. *Endocrinology* 1996; 137:3144–3147.
- Bauman DE, Perfield II, de Veth MJ, Lock AL, New perspectives on lipid digestion and metabolism in ruminants. *Proc Cornell Nutr Conf* 2003;175-189.
- Berg, J., Stryer, L., Tymoczko, J. (2008): *Bioquímica*. Barcelona, Reverté.
- Boukhliq K, Martin GB. Administration of fatty acids and gonadotrophin secretion in the mature ram. *Anim Reprod Sci* 1997; 49: 148-159.
- Boland MP, Lonergan P and O'Callaghan D. Effect of nutrition endocrine parameters, ovarian physiology and oocyte embryo development. *Theriogenology* 2000; 55:1323-1340.
- Borowczyk E, Caton JS, Redmer DA, Bilski JJ, Weigl RM, Vonnahme AK, Borowicz PP, Kirsch JD, Kraft CK, Reynolds LP, Grazul-Bilska AT. Effects

- of plane of nutrition on in vitro fertilization and early embryonic development in sheep. *J. Anim. Sci.* 2006; 84:1593–1599
- Boulanouar B. Dietary protein or energy both delay age at puberty in ewe lambs. <http://ressources.ciheam.org/om/pdf/a34/97606139pdf>
- Brown, M.S., Goldstein, J.L. Receptor-mediated endocytosis: Insights from the lipoprotein receptor system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1979; 76: 3330-3337.
- Caprio M, Fabbrini E, Isidori AM, Aversa A, Fabri A. Leptin and reproduction. *Endocrinol Metab* 2001;12 (2):65-72.
- Caro JF, MK Sinha, JW Kolaczynski, PL Zhang , RV Considine. Leptin: the tale of an obesity gene. *Diabetes* 1996;45: 1455-62.
- Carroll DJ, Hossain FR, Keller MR. Effect of supplemental fish meal on the lactation and reproductive performance of dairy cows. *J Dairy Sci* 1994; 77:3058.
- Cavadez V, Teixeira A, Delfa R, Rodrigues S. Utilización de Ultrasonidos y el peso vivo para la predicción in vivo de la composición de la canal en corderos. *Producción Animal* 2000; 18:165-168.
- Chapman, D. (1992). *Lípidos*. Barcelona: Alhambra.
- Chehab FF, Mounzih K, Lu R, Lim ME. Early Onset of Reproductive Function in Normal Female Mice Treated with Leptin. *Sci* 1997; 275: 88-90.
- Cheung CC, Clifton DK, Steiner RA. Endocrinology, Proopiomelanocortin Neurons Are Direct Targets for Leptin in the Hypothalamus. *Endocrine Soc* 1997; 138:4489-4492.
- Chouinard PY, Girard V, Brisson GJ. Fatty acid profile and physical properties of milk fat from cows fed calcium salts of fatty acids with varying unsaturation. *J Dairy Sci* 1998;81:471-481.
- Clarkson J, Herbison AE. Postnatal development of kisspeptin neurons in mouse hypothalamus; sexual dimorphism and projections to gonadotropin-releasing hormone neurons. *Endocrinology*, 2006;5817-5825

- Clayton PE, Gill MS, Hall MC, Tillmann V, Whatmore AJ, Price DA. Serum leptin through childhood and adolescence. *Clinic Endocrinol (Oxf)* 1997; 46:727-733.
- Delavaud CF, Bocquier F, Chilliard Y, Keysler DH, Gertler A, Kaan G. Plasma leptin determination in ruminants. Effect nutritional status and body fatness on plasma leptin concentration assessed by RIA in sheep. *J Endocrinol* 2000;165: 519-526.
- DePeters EJ, Taylor SJ, Finley CM, Famula TR. Dietary fat and nitrogen composition of milk from lacting cows. *J Dairy Sci* 1987;70:1192-1201.
- Drackley KJ, Elliott PJ. Milk Composition, ruminal characteristics and nutrient utilization in dairy cows fed partially hydrogenated tallow. *J Dairy Sci* 1993;76:183-196.
- Dyer CJ, Simmons JM, Matteri RL, Keisler DH. Leptin receptor mRNA is expressed in ewe anterior pituitary and adipose tissues and is differentially expressed in hypothalamic regions of well-fed and feed-restricted ewes. *Dom Ani Endocrinol* 1997; 14:119–128
- Elliott JP, Overton TR, Drackley KJ. Digestibility and effects of three forms of mostly saturated fatty acids. *J Dairy Sci* 1994;77:789-798.
- Enriquez, L., González-Quijano, A., Ollero, R., Iglesias, M., Rodríguez- Criado, M.A., y Matas, P. (2003). Ácidos grasos trans y nutrición. *Endocrinol Nutr.*, 50 (8):317-23.
- Ferguson JD, Sklan D, Chalupa WV, Kronfield DS. Effects of hard fats on in vitro rumen fermentation, milk production and reproduction in dairy cows. *J Dairy Sci* 1990;73:2864-2879.
- Forcada F, Abecia JA. The effect of nutrition on the seasonality of reproduction in ewes. *Rev Reprod Nutr Dev* 2006; 46: 355-365.
- Foster DL, Yellon SM, Olster DH. Internal and external determinants of timing of puberty in the female. *J Reprod Fert* 1985;75:375-344.
- Foster DL and Nagatani S. Physiological perspectives on leptin as a regulator of reproduction:Role in timing puberty. *Biol of Rep* 1999;60:205-215.

- Friedman J, Halaas J. Leptin and the regulation of body weight in the mammals. *Nature* 1998; 395: 763-769.
- Galina C, Valencia J. 2006 Reproducción de animales domésticos. 2ª. Limusa, México.
- Greiner SP, Rouse GH, Wilson DE, Cundiff LV, Wheeler TL. Prediction of retail product weight and percentage using ultrasound and carcass measurements in beef cattle. *J Anim Sci* 2003;81:1736-1742.
- Grummer RR and Carroll DJ. A review of lipoprotein cholesterol metabolism: importance to ovarian function. *J Anim Sci* 1988; 66:3160-3173.
- Hafez B, Hafez ESE. 2000 Reproduction farm animals 7a ed. Lippincott Williams and Wilkins. United States of America.
- Hamlin KE, Green RD, Cundiff LV, Wheeler TL, Dikeman ME. Real-time ultrasonic measurement of fat thickness and longissimus muscle area: II. Relationship between real-time ultrasound measures and carcass retail yield. *J Anim Sci* 1995;73:1725-1735.
- Henry BA, Goding JW, Tibbrook AJ, Dunshea FR, Clarke IJ. Intraventricular infusion of leptin elevates the secretion of luteinizing hormone without affecting food intake in long-term food-restricted sheep, but increases growth hormone irrespective of bodyweight. *J Endocrinol* 2001;168:67-77.
- Herrera-Camacho J R, López A, Ku-Vera JC, Williams GL, Quintal-Franco JA. Respuesta ovulatoria, estado de desarrollo y calidad de embriones de ovejas Pelibuey superovuladas suplementadas con ácidos grasos poliinsaturados. *Rev. Mexicana de Ciencias Pecuarias* 2008; 46: 107-117.
- Hightshoe RB, Cochran RC, Corah LR, Kiracofe GH, Harmon DL, Perry RC. Effects of calcium of fatty acids on postpartum reproductive function in beef cows. *J Anim Sci* 1991;69:4097-4103.
- Horner JL, Coppock CE, Schelling GT, Labore JM, Nave DH. Influence of niacin and whole cottonseed on intake, milk yield and composition and systemic responses of dairy cows. *J.Dairy Sci.*, 1986; 69:3087-3093.
- Houseknecht KL, Baile Ca, Matteri RL, Spurlock RL. The biology of leptin: A review. *J Anim Sci* 1998;76:1405-1420.

- Kitawaki J, Kusuki I, Koshiba H, Tsukamoto K, Honjo H. Leptin directly stimulates aromatase activity in human luteinized granulosa cells. *Mol Hum Reprod* 1999; 5:708–713.
- Khorasani GR and KellyJJ. Effect of added dietary fat on performance, rumen characteristics and plasma metabolites of mid lactation dairy cows. *J Dairy Sci* 1998;81:2459-2468.
- Lucy MC, Staples CR, Michel F, Thatcher WW. Effect of feeding calcium soaps to early postpartum dairy cows on plasma prostaglandin F<sub>2α</sub>, Luteinizing hormone, and follicular growth. *J Dairy Sci* 1991;74: 483-489.
- Lucy MC, Savio JD, Badinga L, De La Sota, Thatcher WW. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J Anim Sci* 1992; 70:3615-3626.
- Lodish H, Berk A, Matsudaira P, Kaiser AC, Krieger AC, Scott PM, Zipursky LS, Darnell, J. (2005). *Biología Celular y Molecular*. 5ª ed., Buenos Aires: Medica Panamericana.
- Mateos GG, Rebollar PG, Medel P. (1996): “Utilización de grasas y productos lípidicos en alimentación animal: Grasas puras y mezclas”. XII Curso de especialización FEDNA: Avances en nutrición y alimentación animal. <[http://fundacionfedna.org/publicaciones\\_1996](http://fundacionfedna.org/publicaciones_1996)> (3 noviembre 2013).
- Manzano EC, García MR, Miranda MG, León AE, Fonseca J. Relación entre peso vivo, condición corporal e indicadores bioquímicos de la nutrición de ovejas vacías y secas de la raza pelibuey. *Arch Zoot* 1999; 48:223-226
- Mattos, R., Staples, C.R., and Thatcher,W.W. Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminants. *Rev Reprod* 2000; 5:38-45.
- Mantzoros CS, Varvarigou A, Kaklamani VG. Role of leptin in reproduction. *Diabetologia* 1997;40: 1371–1379.
- Meikle A, Kulcsar M, Chilliari Y, Febel H, Delavaud C, Cavestany D, Chilibroste P. Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. *Rep* 2004;127:727-737.
- Miranda-Jimenez L, Murphy DB. Lipoprotein receptor expression during luteinization of the ovarian follicle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007; 293: 299.

- National Reserch Counsil. (1996) Nutrient of requeriments of small ruminats. The National Academic Press, Washington DC, USA.
- Niswender DG. Molecular control of luteal secretion of progesterone. J Reprod Fertil 2002; 123:333-339.
- Niswender DG, Juengel LJ, Silva JP, Rollyson KM. McIntush WE. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. Physiological Rev 2000; 1:1-29
- Oldick BS, Staples Cr, Thatcher WW, Gyawu P. Abomasal infusion of glucose and fat- Effect on digestion, production and ovarian and uterine functions of cows. J Dairy Sci 1997;80:1315-1328.
- Osorio A.J. Pérez V.C. Miranda J.L. García A.A. y De Lucas T.J. 1990. Inducción de la pubertad en corderas de la raza Rambouillet y Suffolk. En Memorias del III Congreso Nacional de Producción Ovina. AMTEO. Tlaxcala Tlax. México.
- Ovies G, Verdeja OL, Santana F, Leptina y reproducción. Rev Cubana Endocrinol 1999; 10: 191-197.
- Pate JL and Condon WA. Effects of serum and lipoproteins on steroidogenesis in cultured bovine luteal cell. Mol Cel and Edocrinol 1982;28:551-562.
- Palmquist, D.L. (1996): "Utilización de los lípidos en dietas de rumiantes". XII Curso de especialización FEDNA: Avances en nutrición y alimentación animal. < [http://fundacionfedna.org/publicaciones\\_1996](http://fundacionfedna.org/publicaciones_1996)> (3 noviembre 2013).
- Palmquist DL. The role of dietary fats in efficiency of ruminants. JN, 1994;1377S:1384S.
- Quian H, Barb CR, Compton MM, Hausman GJ, Azain MJ, Kraeling RR, Baile CA. leptin mRNA expression and serum leptin concentration as influenced by age, weigh and estradiol pigs. Dom Ani Endocrinol 1999;16:135-146.
- Rabiee AR, Lean J, Gooden JM, Miller BG. Reationships among metabolites influencing ovarian function in the dairy cow. J Dairy Sci 1999;82:39-44.

- Robertson MS, Wolfe MW, Stunpf TT, Kittok RJ, Kinder JE. Luteinizing hormone secretion and corpus luteum function in cows receiving two levels of progesterone. *Biol Rep* 1989; 41:997.
- Robinson JF, Karch FJ, Forter DL and Dziuk PJ. Nutrition and fertility in ruminant livestock. *Anim Feed Sci Tec* 2006;126:259-276.
- Ruiz- Cortés TZ, Martel-Kennes Y, Genvry YN, Downey RB, Palin MN, Muphy DB. Biphasic Effects of Leptin in Porcine Granulosa Cells. *Biol Rep* 2003; 68: 789–796.
- Russel AJF, Doney JM, Gunn RG. Subjective assessment of body fat in live sheep. *J Agric Sci* 1969;72:451-454.
- Ryan DP, Spoon RA, Williams GL. Ovarian Follicular characteristics, embryo recovery and embryo viability in heifers fed high fat diets and treated with follicle stimulation hormone. *J Anim Sci* 1992;70:3505-3513.
- Ryan DP, Bao B, Griffth MK, Williams GL. Metabolic and luteal sequelae to heightened dietary fat intake in postpartum beef cows. *J Anim Sci* 1995;73:2086-2093.
- SAS. SAS procedure users guide version 6. 3 ed .SAS institute, INC., Cary, NC, USA.
- Scaramuzzi RJ, Campell BK, Qowning JA, Kendall NR, Khalid M, Muñoz-Gutierrez M and Somchit A. A review of effects of supplementation nutrition in the ewe on the concentration of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulate rate. *Rep Nutr Dev* 2006; 46:339-354.
- Silva SR, Gomes MJ, Silva A, Gil LF, Azevedo JMT. Estimation in vivo of the body and carcass chemical composition of growing lambs by real- time ultrasonography. *J Anim Sci* 2005;83:350-357.
- Sklan D. A note on production responses of lactating ewes to calcium soaps of fatty acids. *Anim. Prod* 1992; 55: 288-291.
- Somchit A, Campell BK, Khalid M, Kendall NR and Scaramuzzi RJ. The effect of short- term nutritional supplementation of ewe with lupin grain (*lupines luteus*), durin the luteal phase of the estrus cycle on the number of ovarian

- follicles and concentrations of hormones and glucose in plasma and follicular fluid. *Theriogenology* 2007;68:1037-1044.
- Son JR, Grant J, Larson LL. Effects of tallow and scape protein on lactational and reproductive performance of dairy cows. *J Ani Sci* 1996;79:822-830.
- Spincer LJ, Alpizar E, Echternkamp SE. Effects of insulin-like growth factor I, and gonadotropins on bovine granulosa cell proliferation, progesterone production, estradiol production and (or) insuline- like growth factor I production in vitro. *J Anim Sci* 1993;71:1232-1241.
- Staples CR, Burke JM, Thatcher WW. Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lacting cows. *J. Dairy Sci* 1998;81:856-871.
- Steel RG, Torrie HJ. 1997 *Bioestadística: principios y procedimientos*. 2ed Mc Graw-Hill.
- Stegeman GA, Casper DP, Shingoethe DJ, Baer RJ. Lactational responses of dairy cows fed unsaturated dietary fat and receiving bovine somatotropin. *J. Dairy Sci.*, 1992; 75:1936-1945.
- Strauss JF, Schuler LA, Rosenblum MF y Tanaka T. Cholesterol metabolism by ovarian tissue. *Adv Lipid Res* 1981; 18:99- 157.
- Stryer L. (2001). *Bioquímica* (4ª ed). España: Reverté.
- Stubbings RB, Bosu WTK, Barker CAV and King GJ. Serum Progesterone Concentrations Associated with Superovulation and premature Corpus Luteum Failure in Dairy Goats. *Can J Vet Res* 1986; 50: 369-373.
- Talavera F, Park CS, Williams GL. Relationships among dietary lipid intake, serum cholesterol and ovarian function in Holstein Heifers. *J Anim Sci* 1985;60:1045-1051.
- Thomas L, Wallace JM, Aitken RP, Mercer JG, Trayhurn P, Hoggard N. Circulating leptin during ovine pregnancy in relation to maternal nutrition, body composition and pregnancy outcome. *J Endocrinol* 2001;169:465-476.
- Viñoles C, Forsberg G, Banchemo G, Rubianes E. Ovarian follicular dynamics and endocrine profiles in polwarth ewes with high and low body condition. *Anim Sci* 2002;74:539-545.

- Viñoles C, Forsberg G, Martin GB, Cajarville C, Meikle A. Short-term nutritional supplementation of ewe in low body condition effects follicle development due to increase in glucose and metabolic hormones. *Rep* 2005;129:299-303.
- Wakerfield LS, Lane M, Shuiz JS, Hebart LM, Thompson GJ, Mitchell M. Maternal supply of omega-3 polyunsaturated fatty acids alter mechanisms involved in oocyte and early embryo development in the mouse. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008; 294: E425-E434.
- Whitley NC, Jackson DJ. An update on estrus synchronization in goats: a minor species. *J Anim Sci* 2004;82: 270-276.
- Wehrman ME, Welsh TH, Williams GL. Diet-induced hyperlipidemia in cattle modifies the intrafollicular cholesterol environment, modulates ovarian follicular dynamics and hastens the onset of postpartum luteal activity. *Biol Reprod* 1995;45:514-522.
- Williams GL. Modulation of luteal activity in postpartum beef cows through changes in dietary lipid. *J Anim Sci* 1989;23:339-349.
- Zeron Y, Ochretny A, Kerdar O, Borochoy A, Sklan D, Arav A. Seasonal changes in bovine fertility: relation to developmental competence of oocytes, membrane properties and fatty acid composition of follicles. *Reproduction* 2001; 121: 447-454.
- Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barome M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the Ob gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372:425-432.