

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

ESCUELA DE POSGRADO



UNIDAD DE POSGRADO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS

TESIS:

**EFFECTO DE OMEGA 3 Y 6 PROVENIENTES DE SEMILLAS DE
HUAYLLABAMBA (*Plukenetia huayllabambana*) Y ZAPALLO
(*Cucurbita maxima*) EN EL PERFIL HORMONAL OVÁRICO DE
VACAS HOLSTEIN EN LACTACIÓN TEMPRANA.**

Para optar el Grado Académico de

MAESTRO EN CIENCIAS

MENCIÓN: SALUD ANIMAL

Presentada por:

GIANFRANCO ALBERTO CHIROQUE BRAVO

Asesor:

Dr. CORPUS HILDEBRANDO CERNA CABRERA

Cajamarca, Perú

2024

CONSTANCIA DE INFORME DE ORIGINALIDAD

1. Investigador:
Gianfranco Alberto Chiroque Bravo
DNI: 46707333
Escuela Profesional/Unidad de Posgrado de la Facultad de Ciencias Veterinarias,
Programa de Maestría en Ciencias. Mención: Salud Animal
2. Asesor: Dr. Corpus Hildebrando Cerna Cabrera
3. Grado académico o título profesional
 Bachiller Título profesional Segunda especialidad
 Maestro Doctor
4. Tipo de Investigación:
 Tesis Trabajo de investigación Trabajo de suficiencia profesional
 Trabajo académico
5. Título de Trabajo de Investigación:

Efecto de omega 3 y 6 provenientes de semillas de Huayllabamba (*Plukenetia huayllabambana*) y Zapallo (*Cucurbita maxima*) en el perfil hormonal ovárico de vacas Holstein en lactación temprana.
6. Fecha de evaluación: 12/11/2024
7. Software antiplagio: TURNITIN URKUND (ORIGINAL) (*)
8. Porcentaje de Informe de Similitud: 10%
9. Código Documento: 3117:424718346
10. Resultado de la Evaluación de Similitud:
 APROBADO PARA LEVANTAMIENTO DE OBSERVACIONES O DESAPROBADO

Fecha Emisión: 26/02/2025

*Firma y/o Sello
Emisor Constancia*


.....
Dr. Corpus Hildebrando Cerna Cabrera
Asesor
DNI: 26678325

* En caso se realizó la evaluación hasta setiembre de 2023

COPYRIGHT © 2024 by
GIANFRANCO ALBERTO CHIROQUE BRAVO
Todos los derechos reservados



Universidad Nacional de Cajamarca
LICENCIADA CON RESOLUCIÓN DE CONSEJO DIRECTIVO N° 080-2018-SUNEDU/CD
Escuela de Posgrado
CAJAMARCA - PERU



PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS

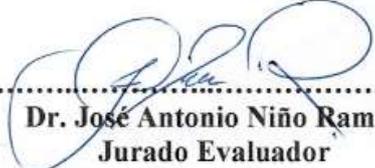
ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Siendo las 11.00. horas, del día 12 de noviembre de dos mil veinticuatro, reunidos en el Aula 1Q-206 de la Escuela de Posgrado de Universidad Nacional de Cajamarca, el Jurado Evaluador presidido por el **Dr. JOSÉ ANTONIO NIÑO RAMOS**, **Dr. GILBERTO FERNÁNDEZ IDROGO**, **Mg. CRISANTO JUAN VILLANUEVA DE LA CRUZ**, y en calidad de Asesor el **DR. CORPUS HILDEBRANDO CERNA CABRERA**. Actuando de conformidad con el Reglamento Interno y el Reglamento de Tesis de Maestría de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Cajamarca, se inició la Sustentación de la Tesis titulada **“EFECTO DE OMEGA 3 Y 6 PROVENIENTES DE SEMILLAS DE HUAYLLABAMBA (*Plukenetia huayllabambana*) Y ZAPALLO (*Cucurbita maxima*) EN EL PERFIL HORMONAL OVÁRICO DE VACAS HOLSTEIN EN LACTACIÓN TEMPRANA.”**, presentada por el Bachiller en Medicina Veterinaria **GIANFRANCO ALBERTO CHIROQUE BRAVO**.

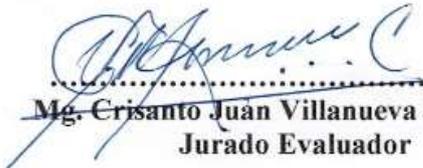
Realizada la exposición de la Tesis y absueltas las preguntas formuladas por el Jurado Evaluador, y luego de la deliberación, se acordó Aprobada con la calificación de 17.00 la mencionada Tesis; en tal virtud, el Bachiller en Medicina Veterinaria, **GIANFRANCO ALBERTO CHIROQUE BRAVO**, se encuentra apto para recibir en ceremonia especial el Diploma que lo acredita como **MAESTRO EN CIENCIAS**, de la Unidad de Posgrado de la Facultad de **Ciencias Veterinarias**, con Mención en **Salud Animal**.

Siendo las 12.30. horas del mismo día, se dio por concluido el acto.


.....
Dr. Corpus Hildebrando Cerna Cabrera
Asesor


.....
Dr. José Antonio Niño Ramos
Jurado Evaluador


.....
Dr. Gilberto Fernández Idrogo
Jurado Evaluador


.....
Mg. Crisanto Juan Villanueva de la Cruz
Jurado Evaluador

DEDICATORIA

A Dios, fuente de fortaleza y guía en cada paso de mi vida, quien ha hecho posible este logro y me ha dado el aliento necesario para continuar.

A mis padres, Luis Alberto Chiroque Chozo e Iris Bravo Vera, por su amor incondicional, sus enseñanzas y el ejemplo de esfuerzo y dedicación que me han inspirado desde siempre.

A mi amada esposa, Susana Horna Gonzales, por su apoyo constante, su paciencia y su fe inquebrantable en mí.

Y a mis hijos, Thiago y Luis, quienes son mi mayor motivo para luchar y superarme cada día. Este logro también es para ustedes.

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a mis profesores del programa de maestría, quienes con su conocimiento, dedicación y compromiso han sido una guía invaluable en mi formación académica.

De manera especial, agradezco a mi asesor, Corpus Cerna, por su orientación, paciencia y valiosos aportes durante el desarrollo de esta tesis.

Extiendo mi gratitud al comité científico, conformado por los doctores José Niño Ramos, Gilberto Fernández Idrogo y Juan Villanueva de la Cruz, por sus observaciones, sugerencias y dedicación para garantizar la calidad de este trabajo.

Finalmente, un agradecimiento muy especial a mi amigo Edgar Vásquez, cuyo apoyo académico y constante disposición para colaborar han sido fundamentales para llevar a cabo esta tesis con éxito.

INDICE

DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTO	vi
RESUMEN	xi
ABSTRACT	xii
CAPITULO I	1
INTRODUCCION	1
CAPITULO II	
MARCO TEORICO	6
2.1. Antecedentes De Estudio	6
2.2. Bases Teóricas	11
2.2.1. Efectos del omega 3 y 6 en la reproducción bovina.	11
2.2.2. Esteroidogénesis.....	16
2.2.3 Hormonas esteroideas ováricas.	29
2.2.4 Regulación hormonal en el ciclo estral.....	33
2.2.5 Semilla de Huayllabamba (<i>Plukentia huayllabambana</i>)	40
2.2.6 Zapallo (<i>Cucurbita maxima</i> , variedad Duchesne).....	43
CAPITULO III	
DISEÑO Y CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS	46
3.1. Localización	46
3.2. Materiales	47
3.3.1. Material Biológico	47
3.3.2. Materiales de Campo.....	47
3.3.3. Materiales de laboratorio	47
3.4. Metodología	47
3.4.1. Tipo de investigación	47
3.4.2. Criterio de inclusión y exclusión	48
3.4.3. Tamaño de muestra	48
3.4.4. Diseño procedimental y muestreo.....	48
3.5. Análisis estadístico	54
CAPITULO IV	55
RESULTADOS Y DISCUSION	55
CAPITULO IV75	
CONCLUSIONES	75
RECOMENDACIONES	76

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Grupos tratados con diferentes dosis de aceite de semillas de Huayllabambana y Zapallo.....	50
Tabla 2. Metodología para obtener muestras sanguíneas de Holstein administradas con aceite de semillas de Huayllabambana y Zapallo	52
Tabla 3. Concentraciones de muestras (ul) en el protocolo para la evaluación del perfil lipídico.....	54
Tabla 4. Concentraciones de colesterol (mg/dl) en vacas Holstein tratadas con distintas dosis de aceite de semillas de Huayllabambana y zapallo, según días del ciclo estral...	55
Tabla 5. Concentración de triglicéridos (mg/dl) en vacas Holstein que recibieron diferentes dosis de aceite de semillas de Huayllabambana y zapallo, según el ciclo estral	57
Tabla 6. Lipoproteínas de Alta Densidad (HDL) en vacas Holstein que recibieron diferentes dosis de aceite de semillas de Huayllabambana y zapallo, según el ciclo estral	59
Tabla 7. Lipoproteínas de Baja Densidad (LDL) en vacas Holstein que recibieron diferentes dosis de aceite de semillas de Huayllabambana y zapallo, según el ciclo estral	62
Tabla 8. Concentraciones de progesterona (ng/ml) en vacas Holstein que recibieron diferentes dosis de aceite de semillas de Huayllabambana y zapallo	65
Tabla 9. Concentraciones de Estradiol (pg/ml) en vacas Holstein que recibieron diferentes dosis de aceite de semillas de Huayllabambana y zapallo, según el ciclo estral.....	68
Tabla 10. Concentraciones de Progesterona y Estradiol pos inseminación artificial en vacas Holstein que recibieron diferentes dosis de aceite de semillas de Huayllabambana y zapallo	70
Tabla 11. Tasa de concepción en vacas Holstein que recibieron diferentes dosis de aceite de semillas de Huayllabambana y zapallo.....	73

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Resumen del metabolismo de los ácidos grasos a los eicosanoides de las series 1, 2 y 3 incluyendo la prostaglandina	12
Figura 2. Proceso de regulación de esteroidogénesis. Activación de receptores unidos a proteínas G y de la vía por AMPc-PKA produciendo fosforilación de la proteína StAR o de factores de la transcripción	18
Figura 3. Esquemización de la esteroidogénesis a través de diferentes cascadas de señalización iniciadas por factores como IGF-1.....	19
Figura 4. Diagrama de orgánulos celulares que destaca las fuentes principales del colesterol y su metabolismo enzimático en tejidos gonadales y suprarrenales	21
Figura 5. Vía de esteroidogénesis en una célula lútea típica.....	23
Figura 6. Esquemización de la síntesis de esteroides.....	23
Figura 7. Hormonas córtico suprarrenales: Biosíntesis y participación des enzimas.....	27
Figura 8. Esteroidogénesis ovárica en las fases folicular y lútea	29
Figura 9. Regulación molecular de la síntesis de progesterona en la célula luteal bovina	32
Figura 10. Ciclo estral bovino	34
Figura 11. Mapa satelital de la provincia de Chiclayo.....	46
Figura 12: Esquema de la prensa de tornillo helicoidal empleada en la extracción de aceite	49
Figura 13. Comportamiento del colesterol en vacas Holstein que recibieron diferentes dosis de aceite de semillas de Huayllabambana y zapallo, según el ciclo estral.....	55
Figura 14. Comportamiento del trigliceridos en vacas Holstein que recibieron diferentes dosis de aceite de semillas de Huayllabambana y zapallo, según el ciclo estral.....	58

Figura 15. Lipoproteínas de Alta Densidad (HDL) en vacas Holstein que recibieron diferentes dosis de aceite de semillas de Huayllabambana y zapallo, según el ciclo estral	60
Figura 16. Comportamiento de Lipoproteínas de Baja Densidad (LDL) en vacas Holstein que recibieron diferentes dosis de aceite de semillas de Huayllabambana y zapallo, según el ciclo estral.....	63
Figura 17. Comportamiento de Progesterona (ng/ml) en vacas Holstein que recibieron diferentes dosis de aceite de semillas de Huayllabambana y zapallo, según el ciclo estral	66
Figura 18. Concentraciones de Estradiol (pg/ml) en vacas Holstein que recibieron diferentes dosis de aceite de semillas de Huayllabambana y zapallo, según el ciclo estral	69
Figura 19. Comportamiento de las concentraciones de Progesterona y Estradiol pos inseminación artificial en vacas Holstein que recibieron diferentes dosis de aceite de semillas de Huayllabambana y zapallo	71
Figura 20. Tasa de concepción en vacas Holstein administradas con semillas de Huayllabamba (<i>Plukenetia huayllabambana</i>) y Zapallo (<i>Cucurbita maxima</i>)	74

RESUMEN

La investigación tuvo como objetivo determinar el efecto de omega 3 y 6 provenientes de semillas de Huayllabamba (*Plukenetia huayllabambana*) y Zapallo (*Cucurbita maxima*) en el perfil hormonal ovárico de vacas Holstein en lactación temprana. Se realizó en el establo Agropecuaria del Rosario E.I.R.L distrito de la Victoria, Chiclayo, utilizando 27 vacas divididas en un grupo control (G_0) y dos experimentales (G_1 y G_2) de 9 animales cada uno. Las semillas fueron prensadas para extraer el aceite, administrado intramuscularmente 1 ml/100 kg P.V. (G_1) y 2 ml/100 kg P.V. (G_2) cada 15 días. Se tomaron muestras de sangre durante un ciclo normal (fases luteal y folicular), y post-inseminación (12, 17 y 25 días). Las muestras se centrifugaron y el suero se analizó mediante Radioinmunoanálisis (RIA) para progesterona y estrógeno, y métodos enzimático-colorimétrico para colesterol, triglicéridos, Lipoproteínas de Alta densidad (HDL) y Lipoproteínas de baja densidad (LDL). En G_2 , presentó aumento ($p < 0.01$) en colesterol, triglicéridos, HDL y una disminución ($p < 0.01$) en los valores de triglicéridos y LDL en comparación con el G_0 , y se detectaron altos niveles de progesterona en los días 10 y 15, y de estradiol el día 21. Tras la inseminación, la progesterona aumentó ($p < 0.01$) entre los días 12 y 25. Finalmente, G_2 alcanzó una alta tasa de concepción del 88.89% ($p < 0.05$), por lo tanto, la administración de aceite de semillas de Huayllabamba y Zapallo en dosis de 2 ml/100 kg tiene un impacto significativo en el perfil lipídico y hormonal en vacas Holstein en lactación temprana.

Palabras clave: Vacas, pos parto, progesterona, estradiol, perfil lipídico

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the effect of omega 3 and 6 from seeds of Huayllabamba (*Plukenetia huayllabambana*) and pumpkin (*Cucurbita maxima*) on the ovarian hormonal profile of Holstein cows in early lactation. It was carried out in the Agropecuaria del Rosario E.I.R.L stable in the district of La Victoria, Chiclayo, using 27 cows divided into a control group (G₀) and two experimental groups (G₁ and G₂) of 9 animals each. The seeds were pressed to extract the oil, administered intramuscularly 1 ml/100 kg B.W. (G₁) and 2 ml/100 kg B.W. (G₂) every 15 days. Blood samples were taken during a normal cycle (luteal and follicular phases), and post-insemination (12, 17 and 25 days). Samples were centrifuged and serum was analyzed by radioimmunoassay (RIA) for progesterone and estrogen, and enzymatic-colorimetric methods for cholesterol, triglycerides, high-density lipoproteins (HDL) and low-density lipoproteins (LDL). In G₂, there was an increase ($p < 0.01$) in cholesterol, triglycerides, HDL and a decrease ($p < 0.01$) in triglyceride and LDL values compared to G₀, and high levels of progesterone were detected on days 10 and 15, and estradiol on day 21. After insemination, progesterone increased ($p < 0.01$) between days 12 and 25. Finally, G₂ achieved a high conception rate of 88.89% ($p < 0.05$), therefore, the administration of Huayllabamba and Zapallo seed oil at a dose of 2 ml / 100 kg has a significant impact on the lipid and hormonal profile in Holstein cows in early lactation..

Keywords: Cows, postpartum, progesterone, estradiol, lipid profile.

CAPITULO I

INTRODUCCION

La ganadería bovina en el Perú es una actividad fundamental dentro de la producción agropecuaria debido al elevado número de personas que se dedican a ella y su papel crucial en la generación de empleo y divisas. Según el Ministerio de Agricultura del Perú, esta actividad contribuye de manera significativa al producto bruto interno del país, citado por Bocanegra Reyes (2014); donde la producción de vacuno, aporta 5.5 % al sector agropecuario y el 13.5 % al subsector pecuario, registrándose un promedio de 33,2 mil toneladas de animal vivo en el mes de abril de 2016 (*Boletín estadístico de producción, agrícola, pecuaria y avícola*, 2016).

La fertilidad en bovinos preocupa a ganaderos, investigadores y profesionales debido a su baja, la cual es atribuida a varios factores, incluyendo un manejo deficiente de la alimentación que resulta en un balance de energía negativo (BEN-) (Gallegos *et al.*, 2010); ocurre cuando la energía que el animal necesita supera su consumo energético. En épocas de alta demanda, el animal no logra cubrir sus necesidades nutricionales adecuadamente, lo que lo obliga a recurrir intensivamente a sus reservas corporales para compensar el déficit. Esta dependencia de sus reservas internas puede llevar a un desgaste significativo, afectando su salud y rendimiento. Como resultado, su organismo sufre un estrés adicional, ya que debe utilizar recursos vitales que, en condiciones óptimas, deberían mantenerse en reserva (Salvador *et al.*, 2011).

En las vacas lecheras en las primeras etapas de lactancia, el desgaste de sus reservas corporales puede tener un impacto negativo en la actividad ovárica después del parto. Este agotamiento afecta su capacidad reproductiva, ya que su organismo prioriza la

producción de leche y dificulta la recuperación de las funciones ováricas normales (Boland *et al.*, 2001). La solución es aumentar los lípidos en la dieta durante el periodo postparto temprano, lo que incrementa la secreción de LH y FSH por la hipófisis, promoviendo el desarrollo folicular y la ovulación. (Diaz *et al.*, 2009).

Para controlar el balance de energía negativo (BEN) en bovinos, se puede aumentar el consumo de alimentos y/o incrementar el requerimiento energético añadiendo grasa a la ración, ya que ésta proporciona el doble de energía que los azúcares; (Salvador *et al.*, 2011). Algunas grasas, conocidas como grasas sobrepasantes, sales cálcicas, inertes o bypass, pueden utilizarse en concentraciones superiores al 5% de la materia seca sin provocar efectos adversos; además, se puede administrar energía vía intramuscular mediante aceites de origen animal (pescados) o vegetal (semillas), proporcionando la energía necesaria para el animal. (Diaz *et al.*, 2009)

Dependiendo del tipo de grasa utilizada como suplemento dietético, algunas grasas tienen efectos no energéticos, como la fracción de HDL o "colesterol bueno", que impactan directamente en el ovario y útero, aumentando las concentraciones de progesterona (P4) e inhibiendo la secreción de prostaglandinas (especialmente PGF₂α). Estos efectos se han confirmado con el uso de ácidos grasos poliinsaturados Omega 6 y 3 (ω-6 y ω-3) (Salvador *et al.*, 2011); una proporción adecuada de estos ácidos grasos tiene beneficios tanto para la salud humana y animal como para la producción y reproducción (Abayasekara and Wathes, 1999).

Existen diversas fuentes vegetales de ácidos grasos, como las semillas de Huayllabamba (*Plukenetia huayllabambana*), una especie recientemente descubierta en los bosques rocosos de Rodríguez de Mendoza, departamento de Amazonas (Bussmann, Téllez and Glenn, 2009). Estas semillas destacan por su riqueza en proteínas, aceites y ácidos grasos

poliinsaturados, con un alto contenido de omega 3 (54 % de ácido linolénico) y omega 6 (28.47 % de ácido linoleico) (Muñoz et al., 2013).

El zapallo (*Cucurbita maxima*), variedad Duchesne, enriquecida con omega-6, antes desechadas, están siendo valorizadas en Cuba para su uso potencial en la dieta de animales monogástricos, según estudios reportado por Martínez *et al.*, (2007), debido a su elevado contenido de Omega 6 (49.26%) (Bloeck *et al.*, 2006), aminoácidos, fibra dietética y fitoesteroles (Martínez *et al.*, 2010b); además la carne de aves se enriquecieron con omega-3 y omega-6, creando alimentos funcionales beneficiosos para la salud humana. (Chiroque, Arevalo and Vásquez, 2016).

Para abordar la problemática y reconociendo la relevancia de los ácidos grasos esenciales omega-3 y omega-6, así como su relación directa con la salud reproductiva de los bovinos, se planteó como **pregunta general** ¿Cuál es el impacto del omega 3 y 6 provenientes de semillas de Huayllabamba (*Plukenetia huayllabambana*) y Zapallo (*Cucurbita maxima Duchesne*) sobre el perfil hormonal ovárico en vacas Holstein en lactación temprana?, y dando una respuesta a la interrogante del problema se planteó como **hipótesis general**: los omegas 3 y 6 provenientes de los aceites mencionados incrementan los niveles de hormonas ováricas en Holstein.

Diversas investigaciones demuestran que la suplementación y/o adición en la dietas de grasa en vacas lecheras aumentan el colesterol en el plasma, en el fluido folicular y en el cuerpo lúteo (Staples, Burke and Thatcher, 1998) sirviendo como precursor para la síntesis de progesterona por células ováricas donde por medio de lipoproteínas (Densidad alta y baja) entregan el colesterol a los tejidos ováricos para la esteroidogénesis (Grummer and Carroll, 1991). Influyendo algunos ácidos grasos en el rendimientos reproductivo (Staples y Thatcher, 2006 citados por Martínez, 2012). Es por ello la importancia la

administración de las grasas poli-insaturadas de los tipo n-6 y n-3 debido a que los tejidos animales no lo sintetizan, por ello debe ser incorporados en la dieta (Jenkins, 2004 citado por Salvador *et al.*, 2011) o ser administrados como medicamento.

La necesidad de utilizar este tipo nutrientes (Ácidos grasos esenciales) como suplementos se debe a que las pasturas son respectivamente bajos en lípidos (Salvador *et al.*, 2011); además si estos ácidos grasos insaturados se administran vía oral, debemos tener en consideración que una vez descompuestos en el rumen, experimentan un proceso biohidrogenación transformando los ácidos grasos insaturados en saturados (Jenkins, 1993), debido se utiliza grasas sobrepasantes (sales cálcicas) para evitar este proceso que puede tener la grasa activa a nivel ruminal, o administrarlas vía intramuscular.

Es por ello que en esta investigación se planteó como **objetivo general** determinar el efecto del omega 3 y 6 extraído de aceite de semillas de Huayllabamba y Zapallo en los niveles hormonales ováricos en Holstein en lactación temprana, derivando de esta **dos objetivos particulares**, determinar los niveles hormonales ováricas (progesterona y estrógenos) en un ciclo normal y medir el perfil lipídico sanguíneo de vacas Holstein administradas con aceite de semillas de Huayllabamba y Zapallo en dosis de 1 y 2 ml/100 Kg. P.V.

Esta investigación válida la teoría sobre la esteroidogénesis en bovinos, aportando al área reproductiva, especialmente en vacas en lactancia temprana, una etapa crítica para su salud. Los beneficios para los pequeños ganaderos incluyen mejoras en productividad y en parámetros reproductivos, como la reducción de días abiertos y una mayor tasa de concepción en el primer servicio. A nivel práctico, la investigación sugiere que la administración de omega 3 y 6 puede mitigar problemas hormonales, contribuyendo a la sostenibilidad de la producción lechera en vacas Holstein.

La investigación se estructura en cinco capítulos: el primero presenta la introducción, donde se expone la problemática, hipótesis y objetivos; el segundo aborda el marco teórico, que incluye antecedentes de estudios previos y las bases teóricas; el tercer capítulo describe el diseño de contraste de la(s) hipótesis, detallando los métodos y técnicas empleados; el cuarto capítulo muestra los resultados mediante tablas y figuras, acompañadas de sus correspondientes análisis; y finalmente, el quinto capítulo expone las conclusiones y recomendaciones en función de los objetivos planteados.

CAPITULO II

MARCO TEORICO

2.1. Antecedentes De Estudio

Childs *et al.*, (2008) evaluaron el impacto de dietas enriquecidas con ácidos grasos n-3 y n-6 en el metabolismo, hormonas y función ovárica en novillas, comparando tres dietas: sin lípidos, con 2% de habas de soja crudas y con 2% de aceite de pescado. Las novillas que consumieron soja mostraron mayores niveles de ácido linoleico ($P < 0.05$), mientras que las que recibieron aceite de pescado presentaron concentraciones más altas de EPA, DHA ($P < 0.0001$) y ácido araquidónico ($P < 0.05$). Ambos grupos enriquecidos tuvieron mayores niveles de triglicéridos y colesterol ($P < 0.01$) en comparación con el grupo sin lípidos. Las concentraciones de progesterona, estradiol, el crecimiento folicular y el diámetro del cuerpo lúteo no presentaron diferencias significativas entre las dietas ($P > 0.05$). Sin embargo, la concentración de PGFM aumentó en el grupo con soja tras la administración de oxitocina ($P < 0.01$) y se igualó con el grupo de aceite de pescado al día 16. Este estudio evidencia que los ácidos grasos afectan algunos parámetros metabólicos sin alterar la función ovárica básica.

Zachut M. et al., (2008) investigaron el efecto de dietas suplementadas con ácidos grasos poliinsaturados en la función ovárica de bovinos. Compararon una dieta control, una con bajos (LUFA) y otra con altos niveles de ácidos grasos poliinsaturados (HUFA). A los 14-15 días post estro, las vacas recibieron prostaglandina F2 y, 48 horas después, se aspiraron folículos mayores a 7 mm. Se analizaron progesterona (P4), androstenediona (A4) y estradiol (E2) en el líquido folicular. De 75 folículos, 37 considerados E2-activos ($E2/P4 > 1$) fueron analizados en profundidad. Los folículos preovulatorios fueron más grandes en vacas con dieta HUFA, con mayores concentraciones de A4, E2 y relación E2/P4 en comparación con los otros grupos. La expresión de ARNm de aromatasa P450 en las células de granulosa también fue más alta en el grupo HUFA. Además, se encontró correlación significativa ($p < 0.05$) entre las concentraciones de E2 en folículos y en plasma. El

estudio concluye que la dieta con altos ácidos grasos poliinsaturados mejora el tamaño folicular y eleva las hormonas esteroides, lo que favorece la función ovárica.

Diaz et al., (2009) investigaron en vacas de primera lactancia suplementados con omega 3 y 6; treinta días antes hasta los noventa días después del parto, a una dosis de 150 g de grasa sobrepasante que presentaba ácido linoleico en un 17% de (omega 6; Energras®); aumentando el número de folículos mayores de 10 mm de diámetro) ($P < 0.05$) en los primeros noventa días después del parto en vacas Brahman lactantes, también se encontró veinte por ciento de producción por día, comparadas con las del grupo control, lactancia que duro +44 días, producción de leche en un 29,4%, contenido de grasa con 41%) y proteína en 31,2%, sin alterar las características de la leche.

Dirandeh *et al.*, (2013) utilizaron tres dietas: “aceite de palma protegido, linaza extruida y soja integral tostada”, administradas desde el parto hasta el día 70. Las concentraciones de prostaglandina durante los primeros 10 días posparto fueron similares entre las dietas, con valores promedio de 1425, 1570 y 1525 pg/mL, respectivamente. Tampoco hubo diferencias significativas en la detección de celo, con tasas de 83.3%, 86.1% y 89.7% para cada dieta. El estro apareció entre 1 y 1.7 días tras los tratamientos con prostaglandina. En el día 21 no mostraron diferencias ($P > 0.05$) con respecto a las concentraciones de Beta-estradiol en un ciclo estral normal, pero los niveles de progesterona fueron mayores en las vacas alimentadas con linaza y soja (14.1–15.0 ng/mL) comparado con las alimentadas con aceite de palma (10.7–12.0 ng/mL). Esto sugiere que las dietas con linaza y soja pueden mejorar los niveles de progesterona, favoreciendo la función reproductiva. Jahani et al., (2015) evaluaron el impacto de la linaza extruida en comparación con el aceite de palma protegido en vacas lecheras, enfocándose en metabolitos sanguíneos, folículos quísticos y ciclicidad ovárica postparto. Las vacas tratadas con linaza mostraron mayores concentraciones de progesterona postparto temprano (1.31 vs. 0.87 ng/mL) y reanudaron la ciclicidad 7 días antes que las del grupo control. No se encontraron diferencias significativas en días abiertos, servicios por concepción ni tasa de preñez. La linaza extruida redujo la incidencia de folículos quísticos y aceleró el retorno a la ciclicidad sin afectar la tasa de embarazo.

Elis, S. *et al.*, (2016) investigaron el resultado de un suplemento de aceite de pescado protegido por rumen sobre las variables de producción y reproducción en vacas lecheras posparto. Los animales recibieron una dieta mixta basal total más un suplemento de PUFA: n-3 (n-3, aceite de pescado protegido, 1% de ingesta de materia seca (DMI) n = 23) y dieta control (n-6, soja tostada, 1,8% de DMI, n = 23). Se añadieron suplementos a la dieta entre el parto y 2 meses después del parto para evaluar el efecto sobre los folículos ováricos a partir de los cuales se produjo la ovulación alrededor del día de la inseminación. Hubo una tendencia a un aumento del número de folículos grandes (diámetro ≥ 10 mm) con la suplementación dietética n-3 ($P = 0,06$) y una disminución en la infertilidad o mortalidad embrionaria temprana 21 días después de la IA, 13,5% 3 comparado con el 38,8% en el grupo n-6 ($P = 0,09$), sin efecto sobre la tasa de concepción a los 35 d o 90 d.

Núñez y Fernández (2019) evaluaron la involución uterina y reactivación ovárica al administrar omega 3 y 6 en vacas Holstein durante la lactancia temprana. En el estudio, realizado en Chiclayo, 12 vacas posparto divididas en dos grupos, recibiendo dosis intramusculares de “1 ml/100 kg p.v. (grupo 1) y 2 ml/100 kg p.v. (grupo 2)”, junto al tratamiento control. El grupo 2 mostró una involución uterina más rápida, logrando tonicidad uterina y reducción del contenido uterino al 42° día posparto (DPP), comparado con el control, que lo logró al 57 DPP, así mismo, su reactivación ovárica se evidenció desde el 12° DPP, con picos de crecimiento folicular en los días 52 y 77 DPP, siendo mayor en el ovario derecho.

Doyle *et al.*, (2019) investigaron los efectos de los ácidos grasos poliinsaturados omega 3 (PUFA n-3) en la dieta de vaquillas de carne post-inseminación. Las novillas recibieron concentrados con grasa saturada (palmítico, control) o PUFA n-3 parcialmente protegido en el rumen. El estro se sincronizó con dos inyecciones de prostaglandina a intervalos de 11 días, y tras la inseminación artificial (IA), las novillas fueron asignadas a dos grupos nutricionales: alta o baja energía. Se midieron colesterol, triglicéridos, metabolitos y progesterona (P4) en plasma. El grupo con PUFA n-3 mostró un aumento significativo de progesterona desde el día 7 (5.86 ng/mL) hasta el día 16 post IA (11.58 ng/mL, $P < 0.001$), pero el tamaño del embrión disminuyó ($P < 0.001$). El colesterol aumentó de 2.37 mmol/L (antes de IA) a 3.74 mmol/L (14 días post IA), mientras que los triglicéridos disminuyeron ligeramente de 0.23 mmol/L a 0.18 mmol/L en el mismo período.

Toalombo et al., (2022) analizaron los efectos de grasas bypass en el rendimiento reproductivo y productivo de 12 vacas mestizas Holstein en Chimborazo, Ecuador. Las vacas se dividieron en un grupo control y tres de tratamiento (90, 180 y 270 g de grasa bypass con balanceado). Durante 60 días, se midieron la producción de leche, la condición corporal y los días hasta el primer y segundo celo. La suplementación aumentó la producción de leche y mejoró indicadores reproductivos, reduciendo la pérdida de peso en preñez, disminuyendo los días abiertos y acortando el intervalo entre parto y primer celo fértil, lo cual optimizó la eficiencia reproductiva.

Gutierrez (2022) investigó el efecto de tres tipos de grasas en la alimentación de vacas lecheras durante el primer tercio de lactancia (0-100 días postparto). Ocho vacas multíparas recibieron libre acceso a pastura y una suplementación diaria de 400 g de aceite vegetal (soya, palma cruda o grasa sobrepasante), además de un grupo control con solo pasto y balanceado. Los tratamientos se asignaron aleatoriamente, con una semana de adaptación y dos semanas de evaluación para cada uno. No hubo diferencias en el contenido de grasa en la leche ni en los niveles de ácidos grasos omega-3 y omega-6 entre los grupos.

Ulfina et al., (2020) investigaron el impacto de la suplementación con omega 3 en marcadores bioquímicos y rendimiento reproductivo posparto en vacas lecheras mestizas. Se dividieron 24 vacas preñadas en dos grupos: un grupo control recibió una ración estándar más 600 g de melaza, y el grupo tratamiento recibió una ración estándar más 750 g de linaza triturada (fuente de omega 3) por un mes antes y después del parto. Los resultados mostraron que los niveles altos ($p < 0.01$) de PGFM, IGF-1 y progesterona fueron significativamente en vacas suplementadas, alcanzando 1.195 ± 0.143 ng/ml al día 21 posparto, frente a 0.610 ± 0.116 ng/ml en el grupo control. Además, se observó una mayor tasa de concepción en el grupo con omega 3 (58.3%) en comparación con el control (33.3%).

Pereira *et al.*, (2022) evaluaron el impacto de la suplementación con grasa de linaza protegida del rumen en vacas lecheras posparto sobre ácidos grasos n-3 y parámetros metabólicos y reproductivos. A los 11 días en leche (DIM), 29 vacas recibieron aceite de linaza encapsulado (n-3 PUFA), proporcionando hasta 64 g/d de ácido α -linolénico (ALA), y 31 vacas recibieron aceite de palma hidrogenado sin ALA (control). Las vacas n-3 PUFA mostraron mayores concentraciones plasmáticas

de ALA, sin cambios en parámetros metabólicos (condición corporal, glucosa y ácido β -hidroxibutírico). La producción de leche mejoró con la suplementación grasa, mientras que la adiponectinasa presentó una correlación negativa con la ingesta de AGPI n-3. Aunque ambas grasas aumentaron la tasa de concepción tras la primera IA, solo en las vacas n-3 PUFA se observó una reducción en el intervalo entre parto y concepción. La actividad ovárica posparto y la inflamación endometrial a los 45 DIM no fueron afectadas.

Kumar *et al.*, (2022), investigaron los efectos de aceites con omegas 3 y 6 sobre metabolitos sanguíneos, hormonas y funciones ováricas en novillas Sahiwal. Dieciocho novillas fueron asignadas a tres dietas: (i) aceite de palma (PO, control), (ii) aceite de soja (SO, fuente de w-6) y (iii) aceite de linaza (LO, fuente de w-3). El grupo SO aumentó significativamente los niveles plasmáticos de AG w-6, mientras que el grupo LO incrementó los de AG w-3. No hubo cambios en glucosa, triglicéridos ni NEFA entre grupos, pero el colesterol total y HDL fueron mayores en SO y LO. La insulina aumentó en LO, y el IGF-1 fue más alto en SO y LO que en PO. La progesterona al día 12 post-estro fue mayor en LO, y tanto SO como LO incrementaron el tamaño folicular y del cuerpo lúteo (CL). Estos resultados sugieren que la suplementación con aceites ricos en PUFA mejora los metabolitos, hormonas y función ovárica en novillas Sahiwal.

Ballard y Byrd, (2018) realizaron tres experimentos a largo plazo para evaluar el impacto de un suplemento de aceite de pescado protegido en el rumen sobre la reproducción en novillas y vacas maduras. Las vacas recibieron 40 g del suplemento desde el inicio de la lactancia hasta los 90 ± 5 días en leche, mientras que los controles no recibieron adición. En los ensayos con novillas, mejoró significativamente las tasas de preñez (22,4% vs. 14,8% en el ensayo 1; 22,0% vs. 17,8% en el ensayo 2, $p < 0,05$), atribuidas a un mayor número de vacas inseminadas que quedaron preñadas y menos servicios por concepción. En el ensayo 2, las tasas de aborto embrionario fueron menores en el grupo tratado (5,6%) comparado con el control (9,2%), aunque sin significancia estadística. En vacas maduras (ensayo 3), no hubo diferencias significativas en las tasas de preñez, pero el aborto temprano disminuyó (16,8% en control vs. 4,7% en el grupo tratado). El estudio concluye que el suplemento con omega-3 protegido mejora el rendimiento reproductivo, especialmente en rebaños con baja tasa de preñez y alta incidencia de abortos tempranos.

2.2. Bases Teóricas

2.2.1. Efectos del omega 3 y 6 en la reproducción bovina.

Los ácidos grasos esenciales clave para la reproducción animal incluyen los omega-3 de cadena larga: “ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5n-3) y el ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6n-3)”, así como el ácido araquidónico (AA, 20:4n-6) de la familia omega-6, conformado de cadena larga generados en el organismo a partir de ácidos grasos de cadena corta, en particular el “ácido α -linolénico (ALA, 18:3n-3)” y el “ácido linoleico (LA, 18:2n-6)”, por medio de mecanismos bioquímicos de “desaturación y elongación” (Figura 11). La conversión de ALA y LA en PUFA de cadena larga es limitada en la tasa metabólica (Emken, Adlof y Gulley, 1994; Pawlosky *et al.*, 2001), existen pruebas considerables de que existe metabolismo significativo en rumiantes y concentraciones de n-3 en plasma (Kemp *et al.*, 1998), carne (Scollan *et al.*, 2006), la leche (Dewhurst *et al.*, 2003) y el tejido reproductivo debido a concentraciones de ALA y LA en la dieta de los animales.

Los PUFAs de cadena larga EPA y AA son los precursores de eicosanoides, incluyendo prostaglandinas (PG), prostaciclina (PGI), tromboxanos (TX) y leucotrienos (LT) (Chin y Abayasekara, 2004; Smith, Marnett y DeWitt, 1991). La eliminación de dos enlaces dobles de AA (20: 4n-6) por la prostaglandina H sintasa (PGHS, también llamada ciclooxigenasa, COX) deja dos enlaces dobles y conduce a la secretar eicosanoides de serie 2, mientras que la eliminación de dos enlaces dobles de EPA (20: 5n-3) conduce a formar “eicosanoides de la serie-3” (Figura 1).

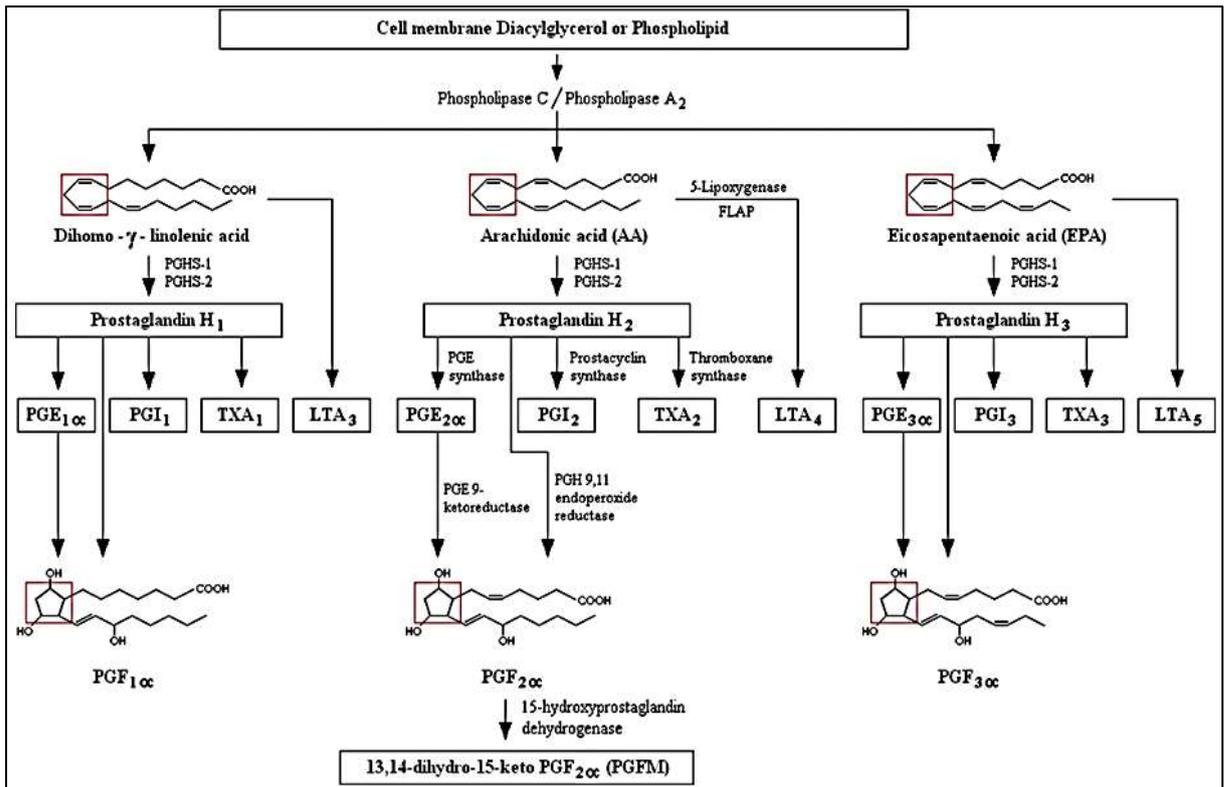


Figura 1. Resumen del metabolismo de los ácidos grasos a los eicosanoides de las series 1, 2 y 3 incluyendo la prostaglandina. PGHS = prostaglandina H sintasa, PGF = prostaglandina F, PGI = prostaciclina, TXA = tromboxano, LTA = leucotrieno, FLAP = proteína activadora de 5-lipoxigenasa.

Fuente: Cheng et al. (2005), Wathes et al. (2007).

Los eicosanoides son moléculas de señalización asociadas con una serie de funciones en el cuerpo incluyendo la inflamación (Peet y Stokes, 2005). La serie-1 y la serie-3 PG son menos inflamatorias, mientras que la serie-2 PG son más inflamatorias (Horrobin y Bennett, 1999). Las PGs, en particular PG-2, incluyendo $PGF_{2\alpha}$, influyendo en varios aspectos de la reproducción, incluyendo la ovulación, el celo, la supervivencia del embrión y el parto (Abayasekara y Wathes, 1999).

La inhibición de la producción de $PGF_{2\alpha}$ por el EPA y DHA no se entiende completamente debido a que una serie de vías pueden estar involucrados (MacLaren *et al.*, 2006), una de ellas es la inhibición competitiva de la acción de la enzima Δ -6 desaturasa durante la síntesis de AA, la exclusión competitiva de la incorporación de AA en membranas de fosfolípidos para reducir la disponibilidad de metabolismo adicional y la inhibición competitiva de la acción de PGHS en el metabolismo de AA a la prostaglandina H2 (Caldari *et*

al., 2006; Cheng *et al.*, 2005). Una dieta enriquecida con n-3 también puede alterar la expresión de los genes implicados en la síntesis de PG (Coyne *et al.*, 2008), es por eso importante una buena relación de n-6/n-3 en dietas de rumiantes para determinar la disponibilidad relativa de los precursores para la formación de eicosanoides.

Las prostaglandinas son difíciles de medir directamente debido a su relativamente corta vida media. Por lo tanto, el metabolito de prostaglandina inactivado (13, 14-dihidro-15-keto PGF₂ α , PGFM) se cuantifica en general (Weems *et al.*, 2006). Los efectos de n-3 sobre las concentraciones circulantes de PG endógeno o del metabolito de PGFM en rumiantes *in vivo* se han examinado después de infusiones de lípidos directas en ovejas o de suplementos de n-3 o n-6 en bovinos (Childs *et al.*, 2008). Por lo tanto, es necesario examinar también experimentos de alimentación *in vivo* con el fin de dar cuenta de la hidrogenación de n-3 y n-6 que se produce en el rumen. Investigaciones realizadas mostraron que las concentraciones plasmáticas de PGFM fueron significativamente más bajas entre el día 0 y 4 después del parto cuando las vacas fueron suplementadas con n-3 de cadena larga de aceite de pescado en comparación con el aceite de oliva, que fue mayor en LA (n-6); mientras que los ácidos grasos plasmáticos no se midieron, el menor nivel de PGFM plasmático se asoció con una mayor proporción de EPA y DHA y una menor proporción de LA en la leche y las carúnculas (Mattos *et al.*, 2004).

A. *Omega-3 y 6 en los perfiles hormonales ováricos.*

Los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) omega-3 y omega-6 pueden afectar diversos aspectos relacionados con secreción y el desarrollo metabólico de hormonas de la reproducción. Dietas ricas en omega-3 suelen estar vinculadas a niveles más bajos de colesterol en plasma (Robinson *et al.*, 2002; citado por Gulliver *et al.*, 2012), lo que puede conducir a la reducción de la síntesis de hormonas esteroideas, entendiendo que precursor es el colesterol para la producción tanto progesterona (P4) como estradiol (E2) (Staples *et al.*, 1998). No obstante, las altas concentraciones de omega-3 pueden inhibir la acción de PGF₂ α , lo cual puede evitar la regresión del cuerpo lúteo (CL) y

favorecer la liberación prolongada de progesterona (P4) (McCracken et al., 1972; citado por Gulliver *et al.*, 2012). El incremento en las concentraciones plasmáticas de EPA se relaciona con un aumento en los receptores activados por el proliferador de peroxisomas “PPAR”. (MacLaren et al., 2006), también puede estar asociado con un aclaramiento reducido de P4 (Galbreath *et al.*, 2008). Por el contrario, las dietas altas en n-6 están asociadas con una proteína reguladora aguda esteroide (Wang et al., 1999; citado por Gulliver *et al.*, 2012) y PGE2 (Marsh, 1970), que pueden estimular la producción de P4 (Wathes et al., 2007).

A pesar de una serie de hipótesis posiblemente contradictorias que unen n-3 y n-6 con la síntesis de hormonas esteroideas, los resultados de estudios in vivo han mostrado generalmente efectos consistentes. El aumento de n-3 se asoció con menores concentraciones plasmáticas de P4 en vacas lecheras en la fase lútea media (Robinson et al., 2002; citado por Gulliver *et al.*, 2012) y menor producción de P4 en células lúteas bovinas (Hinckley *et al.*, 1996). Por el contrario, el aumento de n-6 se asoció con mayores concentraciones de progesterona en el plasma de oveja (Burke *et al.*, 1997) y células corporales luteinas bovinas (Weems *et al.*, 2007). Mientras que el n-3 más alto se asocia generalmente con menor P4, también se asocia con mayores concentraciones plasmáticas de E2 en vacas lecheras (Robinson et al., 2002). El efecto no significativo de la cadena corta y de larga cadena de n-3 en las concentraciones plasmáticas de Progesterona en algunos estudios puede deberse a la interacción de E2 exógeno administrado durante la sincronización (Ambrose *et al.*, 2006). Aunque la producción de P4 parece ser menor con n-3 y superior con n-6, el mecanismo exacto a través del cual n-3 y n-6 modula P4 y E2 no está claro. Mientras que n-3 y n-6 pueden interferir con el colesterol como un sustrato para la producción de esteroides, los efectos más significativos de n-3 y n-6 tienen más probabilidades de estar mediados a través de sus efectos en la síntesis de series 2 y series -3 PG (como se indicó anteriormente) y los efectos posteriores de PG en P4 y E2. La interacción de n-3 con la producción y el metabolismo de la hormona esteroidea puede complicarse aún más por retroalimentación negativa, ya que E2 puede reducir la actividad de la $\Delta 6$ - desaturasa reduciendo

así la disponibilidad de Cadena n-3 sustratos para la síntesis de la serie-3 eicosanoides (González et al., 1986, citado por Gulliver *et al.*, 2012).

B. Omega-3 y 6 en el desarrollo del folículo

La cantidad y el tamaño de los folículos ovulatorios son factores clave que influyen en el éxito potencial de la tasa de ovulación y en la viabilidad del ovocito (Ambrose *et al.*, 2006). El diámetro medio del folículo ovulatorio y cuerpo lúteo (CL) se incrementó cuando las vacas lecheras recibieron dietas ricas en ácidos grasos omega-3 (n-3), mientras que el tamaño del folículo disminuyó en aquellas alimentadas con dietas altas en omega-6 (n-6). (Homa y Brown, 1992; citado por Gulliver *et al.*, 2012). Sin embargo, las dietas altas en n-6 también pueden mejorar al desarrollo folicular, debido a que el número de folículos de tamaño medio aumentó cuando las vacas fueron suplementadas con n-6 (de soja) en comparación con el n-3 de cadena larga de aceite de pescado o grasa saturada (Thomas et al., 1997).

C. Omega-3 y 6 en el inicio del estro y tasa de ovulación

El efecto de n-3 y n-6 en las hormonas PG y esteroides también tiene el potencial de afectar el comienzo del celo y la ovulación (Abayasekara y Wathes, 1999). En particular, el aumento de PGF₂α O PGE₂ asociado con n-6 más alto podría estimular la luteólisis temprana de la LC y la aparición temprana del celo (Mattos et al., 2000), mientras que la inhibición de PG por n-3 tiene el potencial de tener el efecto opuesto. A pesar de que no fue estadísticamente significativa ($p < 0,1$) los tiempos de estro conductual y plasma de LH y E₂ pico fueron numéricamente más largo cuando las vacas fueron suplementadas con una alta n-3 de linaza antes y después del parto (Zachut et al., 2011). El tiempo hasta el celo también fue un día más corto cuando las ovejas fueron infundidas intravenosamente con aceite de oliva (proporción n-6: n-3 más alta) en comparación con el aceite de soja, estimuló mayores concentraciones plasmáticas de PGFM y PGE₂ (Burke et al., 1996, citado por Gulliver *et al.*, 2012) proporcionando evidencia y además consolido los posibles vínculos entre los ácidos grasos, la PG y el inicio del celo . Mientras que la tasa de ovulación aumenta cuando el contenido energético de

la dieta se incrementa mediante la adición de lípidos totales (El-Shahat y Abo-El maaty, 2010) o la combinación de n-3 y n-6 (Jones et al., 2008).

2.2.2. Esteroidogénesis.

Serie de reacciones bioquímicas que permiten la formación de hormonas esteroides en un tejido específico u órgano. (Clínica Universidad de Navarra, 2007); puede regularse a corto o largo plazo, dependiendo del órgano. Por ejemplo, en las glándulas suprarrenales y las gónadas, la regulación es rápida o inmediata, mientras que en el cerebro y la placenta ocurre de manera más lenta o sostenida (Gómez-Chang et al., 2012). Lo anterior está regulado por diversos factores y hormonas. En una respuesta rápida o aguda, que comienza en minutos, el colesterol se moviliza hacia la mitocondria. (Hu *et al.*, 2010), ocurre una translocación del colesterol desde la membrana externa a la interna de la mitocondria, lo que facilita la síntesis de pregnenolona a través de la acción de la “enzima citocromo P450_{scc}”, conocida como "CYP11A1 (Cholesterol side cleavage enzyme)” (Gómez, Larrea y Martínez, 2012).

a) Esteroidogénesis gonadal.

Estructuras clave del ovario son el folículo en desarrollo, folículos atrésicos y el estroma y cuerpo lúteo. A diferencia de las glándulas suprarrenales, el ovario no cuenta con las enzimas 21-hidroxilasa y 11 β -hidroxilasa, lo que impide la producción de mineralocorticoides y glucocorticoides. La esteroidogénesis en el ovario comienza con el colesterol, que se obtiene desde la conversión de acetato o de forma directa a nivel sanguíneo. A partir de la pregnenolona, tiene dos rutas: “la vía delta-5-3-hidroxilo y la vía delta-4-3-cetona”. La primera produce 17 α -pregnenolona y dehidroepiandrosterona (DHEA), derivando en androstenediona y es típica de tejidos no luteinizados, como el estroma y células de la teca. La segunda ruta genera progesterona y 17 α -progesterona, y ambas vías convergen en la producción de androstenediona. Esta última ruta es más activa a nivel de células de la granulosa (tejido luteínico) (Andersen, 1977; Speroff et al., 1978; Wentz, 1979; citado por Fernandez and Mangel, 1983).

b) Esteroidogénesis suprarrenal.

La glándula adrenal presenta tres zonas con funciones hormonales específicas. La zona glomerular produce mineralocorticoides, principalmente aldosterona, cuya regulación depende del “Sistema renina-angiotensina, la concentración de sodio, volumen de líquido extracelular, y presión renal”. En la zona fascicular, el cortisol es el producto final, regulado hormonalmente por la adrenocorticotrópica (ACTH) mediante un proceso de retroalimentación negativa controlado por el hipotálamo. La zona reticular genera andrógenos débiles, como el “Sulfato de dehidroepiandrosterona y la androstenediona”, que actúan como intermediarios en la síntesis de mineralocorticoides y glucocorticoides. La ACTH regula esta zona estimulando la conversión de colesterol en pregnenolona y su captación desde la circulación hacia las adrenales. A diferencia de la zona fascicular, la zona glomerular carece de la enzima 17 α -hidroxilasa, lo que permite la conversión de progesterona en corticosterona y, finalmente, en aldosterona mediante la 18-hidroxilasa (Andersen, 1977, citado por Fernandez y Mangel, 1983).

2.2.2.1 Vías de señalización

El proceso de esteroidogénesis está regulada por las proteínas cinasa (PKA) ligado al adenosín monofosfato cíclico/AMPC. Las hormonas trópicas tienen como resultado el aumento del AMPC estimulando a la PKA, la cual se produce una fosforilación de proteínas implicadas en el traslado del colesterol a la mitocondria, ejemplo la proteína StAR (Steroidogenic Acute Regulatory protein = Proteína aguda reguladora esteroidogénica) de 30 kDa, el cual tiene como fin aumentar la acción hormonal promoviendo la esteroidogénesis (corteza suprarrenal y gonadas).(Granot *et al.*, 2003).

El inicio de la esteroidogénesis es por la activación de emisarios primarios de naturaleza hormonal por medio de eventos proteicos como fosforilación o desfosforilación; así como también de componentes moleculares que participan en la transcripción de esta manera regula la esteroidogénesis. El primer mensajero que participa

en la transducción, requiere la interacción de siete dominios transmembranales ensamblados a proteínas Gs, activando la adenilato ciclasa (AC) y catalizando la formación de AMPc a partir de ATP; como segundo mensajero “AMPc”, impulsando a la PKA. Entendiendo que asimismo hay otras proteínas: fosfodiesterasas, canales iónicos, proteínas cinasas dependientes de Guanosina Monofosfato cíclico “GMPc” (PK-G) y proteínas de intercambio de nucleótidos (EPAC) que son impulsadas por AMPc (Aye *et al.*, 2009). En la esteroidogénesis, ciertas células tiene una efecto importante hacia los factores hormonales, con relación a la activación de receptores unidos a proteínas G, incentivando a que la adenilato ciclasa se estimule y el AMPc aumente intracelularmente. La respuesta aguda a nivel de las gónadas y glándulas suprarrenales, con respecto a la vía AMPc-PKA se da presenta la fosforilación de enzimas siendo la actora principal la hidrolasa de ésteres del colesterol; además también participan proteínas como el StAR que son utilizadas para el transporte de colesterol hacia la mitocondria (Figura 2).

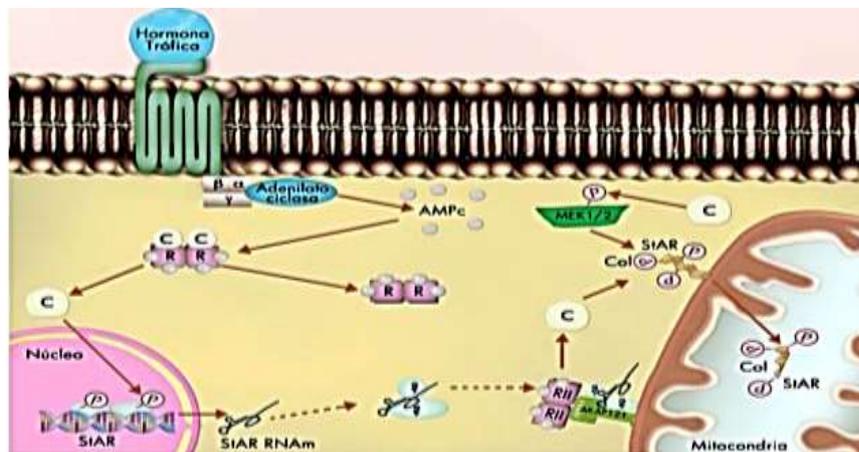


Figura 2. Proceso de regulación de esteroidogénesis. Activación de receptores unidos a proteínas G y de la vía por AMPc-PKA produciendo fosforilación de la proteína StAR o de factores de la transcripción.

Fuente: Gómez, Larrea y Martínez (2012)

Las “MAPK (proteínas cinasas activadas por mitógenos)”, funcionan como transductores de señales activadas por factores como el factor de crecimiento epidérmico (EGF), la interleucina 1 (IL-1) y el “factor de

crecimiento similar a la insulina” (IGF-1), los cuales poseen receptores vinculados a tirosina cinasa. Esta, a su vez, activa secuencialmente otras cinasas efectoras, siendo MEK-ERK1/2 una de las más estudiadas. La vía MAPK tiene una actividad moderada (menos del 1%) en comparación con la vía AMPc/PKA. Entre sus funciones, MAPK participa en la biosíntesis de esteroides regulando proteínas como CREB, ATF-1 (factor activador de la transcripción 1) y cJun/cJunD, que a su vez influyen en la proteína StAR. Además, estudios en ratones han mostrado que, en las células de Leydig, la unión de IGF-1 a su receptor estimula diversos factores de transcripción, involucrando cinasas como PKA, PKC y MAPK (Stocco *et al.*, 2005).



Figura 3. Esquematación de la esteroidogénesis a través de diferentes cascadas de señalización iniciadas por factores como IGF-1.

Fuente: Stocco *et al.*, (2005).

En la esteroidogénesis, la liberación de ácido araquidónico es inducida por la “hormona luteinizante (LH) o la gonadotropina coriónica humana (hCG)”, lo que incrementa AMPc de forma intracelulares, y se libera por la enzima fosfolipasa A2. El ácido araquidónico es crucial porque sus metabolitos regulan la transcripción y expresión de la proteína

StAR. En las células suprarrenales, el ácido araquidónico se libera a nivel intercelular mediante la activación de la enzima acil-CoA tioesterasa mitocondrial (ARTIS_t) y la ACS4 (acil-CoA sintasa preferente por ácido araquidónico), ambas esenciales para la expresión de StAR (Maloberti *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2000). Como se ha mencionado, la vía principal en la esteroidogénesis es la PKA/AMPC. Sin embargo, dependiendo del tipo de tejido, otras cascadas pueden actuar junto con PKA para regular el proceso de biosíntesis, como señala Gómez, Larrea Martínez (2012).

2.2.2.2 Síntesis de colesterol y su influencia en la esteroidogénesis

El hígado, órgano que ocurre la mayor síntesis del colesterol (Krisans, 1966), este colesterol se transporta hacia la corteza adrenal y las gónadas en forma de “lipoproteínas de alta (HDL) y baja densidad (LDL)”. A nivel del cuerpo luteo, estas lipoproteínas participan en la síntesis de hormonas esteroides (Hwang y Menon, 1983).

Las células lúteas captan LDL a través de un proceso de endocitosis dependiente de receptores. (Brown y Goldstein, 1986). En el interior de la célula, los endosomas se fusionan con los lisosomas, donde el LDL se separa del receptor y se descompone, liberando colesterol libre para uso celular. Luego, el receptor puede ser reciclado para futuros procesos o eliminado según las necesidades de la célula (Grummer y Carroll, 1988). El HDL es captado desde el exterior de la célula se realiza a través de una “proteína de unión en la membrana plasmática”, por medio de un proceso de endocitosis distinto al que implica receptores específicos, detallado en la Figura 3. (Johnson, Phillips y Rothblat, 1997). La captación de HDL también se lleva a cabo por el “receptor scavenger de tipo 1, clase B (SR-B1)”, demostrando aumento a nivel del cuerpo lúteo bovino durante el proceso de luteinización, según estudios realizados tanto *in vivo* como *in vitro* (Rajapaksha *et al.*, 1997; Acton *et al.*, 1996)

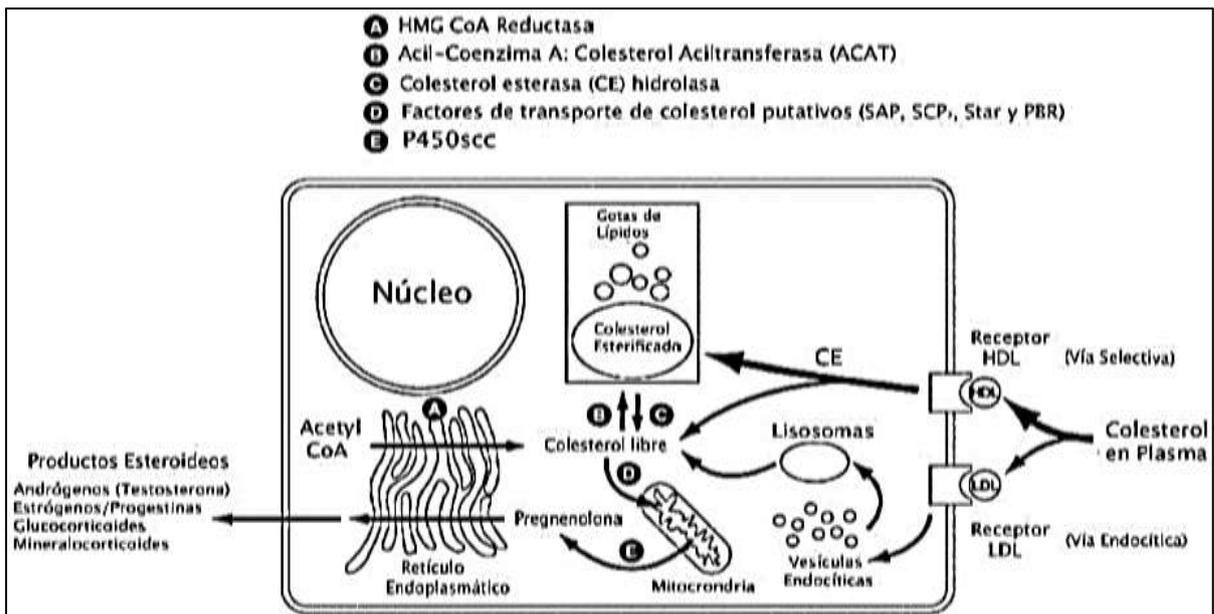


Figura 4. Diagrama de orgánulos celulares que destaca las fuentes principales del colesterol y su metabolismo enzimático en tejidos gonadales y suprarrenales.

Fuente: Azhar y Reaven (2002)

Cuando el colesterol se encuentra en el citosol, puede utilizarse en la esteroidogénesis, ayudando a formar “membranas, o ser esterificado” con ácidos grasos mediante una enzima llamada esterasa sintetasa, formando ésteres que se almacenan en la célula. (Johnson, Phillips y Rothblat, 1997). Los ésteres de colesterol suelen acumularse en forma de gotitas lipídicas, las cuales sirven como marcador para identificar “células esteroidogénicas”. La enzima colesterol esterasa se encarga de hidrolizar estos ésteres, liberando colesterol a nivel celular listo para ser usada, primer paso en la esteroidogénesis y está cuidadosamente regulado por vías de segundos mensajeros; la actividad de la “colesterol esterasa”, intensificada debido a la fosforilación de “proteína quinasa, PKA” (Caffrey, Fletcher y Diekman, 1979).

Cuando el organismo lo requiere, el colesterol es trasladado a partir el citoplasma hacia la mitocondria con la ayuda de la “proteína Star” (Bose *et al.*, 1999). A continuación, el citocromo P450 (P-450scc), junto con la adrenodoxina y la adrenodoxina reductasa, elimina la cadena lateral del colesterol, transformándolo en pregnenolona (Niswender *et al.*, 2000). EL transporte de la pregnenolona hacia el “Retículo endoplasmático liso”, se debe a una asociación a nivel

mitocondrial, donde la enzima 3β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (3Bhsd) la transforma en progesterona (Niswender, 2002; Hanukoglu, 1992).

Las hormonas luteotrópicas estimulan la producción de progesterona (P4) en “células luteales pequeñas al activar la PKA”, facilitando el traslado del colesterol hasta el “complejo enzimático P450scc”. No obstante, no presentándose en grandes células luteales (Wiltbank et al., 1993) (Figura 5).

La progesterona a nivel folicular, participa en síntesis de estradiol, que depende de la producción de andrógenos en las células de la teca y su posterior conversión a estrógenos en las “Células de la granulosa”. Este proceso sigue el modelo de "dos células/dos gonadotropinas." El ARNm de los receptores FSH-R y de la enzima P450arom se expresa exclusivamente en las células de la granulosa. Mientras que las células de la teca contienen “ARNm de P450 17α -hidroxilasa/C17-20 liase (P450c17) y de Star, mientras que el ARNm de LH-R, P450scc y 3β -HSD” se encuentra para ambos tipos de células (Bao et al., 1997).

Estas células pueden transformar “colesterol en progestinas como la progesterona y pregnenolona” (Fortune y Quirk, 1988). Sin embargo, no pueden convertir progesterona en androstenediona debido a la ausencia de la enzima P450c17 en las células de la granulosa, aunque sí pueden convertir las progestinas de la teca en estradiol. (Pelletier et al., 2001) (Figura 6).

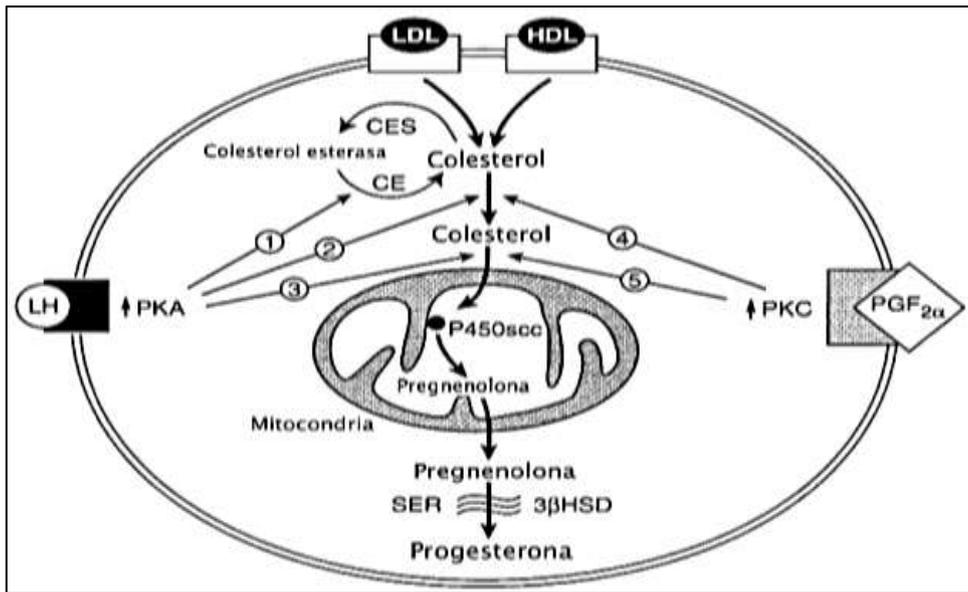


Figura 5. Vía de esteroidogénesis en una célula lútea típica.
Fuente: Niswender et al., (2000).

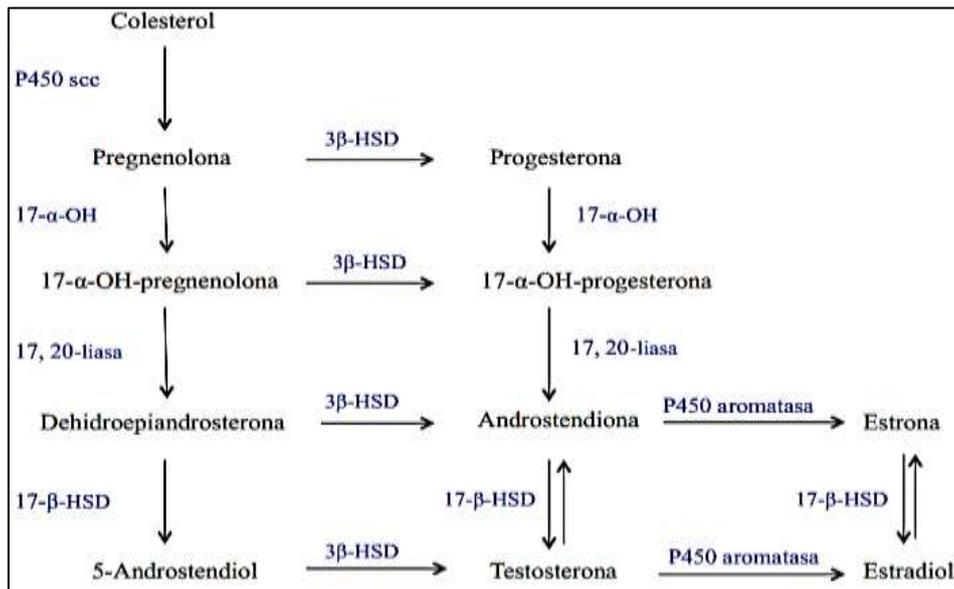


Figura 6. Esquematización de la síntesis de esteroides.
Fuente: Svensson, (2000).

2.2.2.3 Biosíntesis de hormonas esteroides.

Las hormonas de origen esteroideas son originarias del colesterol. En los tejidos esteroidogénicos, las células presentes en estos tejido sintetizan colesterol de novo a partir de acetato activado (acetil-Coenzima A), luego movilizan los almacenamientos intracelulares de ésteres de colesterol unidos a través de lipoproteínas del plasma, por lo

que el 80 % del colesterol procede de las lipoproteínas plasmáticas (Gwynne y Strauss, 1982)

A. Biosíntesis de hormonas esteroideas adrenales.

A nivel cortico adrenal, el colesterol se sintetiza a partir de la acetil Coenzima A (acetato), donde aproximadamente el 20 % de la capacidad esteroideogénica se debe a la biosíntesis intracelular de colesterol (Gwynne y Strauss, 1982).

El colesterol intracelular por medio de las células adrenocorticales, está regulado mediante retroalimentación negativa a través de la vía de LDL, que monitorea el colesterol libre. La captación de LDL reduce la síntesis de colesterol celular al disminuir la actividad de la “enzima hidroximetilglutaril-coenzima A (HMG-CoA) reductasa”, clave en la producción de colesterol. Esto estimula la esterificación del colesterol y disminuye la cantidad de receptores de LDL en la membrana plasmática, debido a la abundancia de colesterol asociado a LDL (Kovanen *et al.*, 1979a; P. Kovanen *et al.*, 1979b)

En el proceso de captación de LDL, la ACTH busca aumentar el número de receptores de LDL en la superficie celular y activar la colesterol esterasa, lo cual libera colesterol libre a partir de los ésteres de colesterol en el LDL o en las gotas lipídicas. Además, la ACTH no estimula la actividad de la enzima HMG-CoA reductasa ni interfiere con la capacidad del LDL para ser eliminado (Shima, Mitsunaga y Nakao, 1972).

Los citocromos P-450 son enzimas oxidativas que, al reducirse con monóxido de carbono, presentan un pico de absorción a 450 nm. Estas enzimas cumplen múltiples funciones biológicas, como la transferencia de electrones desde cofactores como NADH y NADPH, a través de proteínas transportadoras de electrones, hacia el oxígeno molecular, lo cual resulta en la oxidación de los sustratos.

En el caso de los citocromos P-450 esteroideogénicos, sus sustratos incluyen compuestos de colesterol con varios anillos carbonados. Un ejemplo es el citocromo P-450_{scc}, una enzima mitocondrial en la glándula adrenal, que escinde la cadena lateral del colesterol entre los carbonos C-21 y C-23. (Miller, 1988)

El colesterol libre se transporta desde el citoplasma hasta la membrana interna de la mitocondria, donde se encuentra la primera enzima involucrada en la esteroideogénesis. En este proceso también participan factores proteicos, como la proteína SCP2 y la proteína StAR, que facilitan el traslado del colesterol hacia la membrana interna mitocondrial, considerado uno de los principales pasos limitantes de esta vía metabólica. (Stocco y Clark, 1996).

En la mitocondria, el colesterol experimenta oxidaciones en los carbonos C-20 y C-22, catalizadas por la enzima P-450_{scc}, que provocan la escisión de su cadena lateral y la formación de pregnenolona. Durante este proceso, los electrones se transfieren a P-450_{scc} mediante un sistema de transporte de electrones que incluye a la adrenodoxina, una proteína no hemo, rica en hierro y soluble en la matriz mitocondrial, y a la adrenodoxina reductasa, una flavoproteína asociada a la membrana interna de la mitocondria. Esta flavoproteína recibe electrones del NADPH y los transfiere a la adrenodoxina, funcionando como un transportador de equivalentes reductores hacia distintos citocromos P-450 (Stocco y Clark, 1996).

La pregnenolona se convierte en 11-desoxicorticosterona en el retículo endoplásmico. Primero, la pregnenolona se convierte en progesterona mediante la deshidrogenación en el grupo hidroxilo del carbono C-3 y la isomerización del doble enlace en ese mismo carbono, reacciones catalizadas por la enzima 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa/ Δ 4,5-isomerasa (3 β -HSD). Luego, la progesterona se hidroxila en el carbono C-21 gracias a la acción del citocromo P-450_{c21}, transformándose en 11-desoxicorticosterona. Durante este proceso, los electrones necesarios son proporcionados por una flavoproteína microsomal (distinta de la mitocondrial) que transfiere

electrones desde el NADPH hacia el P-450c21 (y también hacia el P-450c17). Finalmente, la 11-desoxicorticosterona sirve como sustrato para el citocromo P-450c11 (Romero, 1999).

La enzima 11 β -hidroxilasa (CYP11B1) cataliza la conversión de 11-desoxicorticosterona en corticosterona y en 18-hidroxidesoxicorticosterona. La CYP11B1 se encuentra exclusivamente en las zonas fasciculada y reticular de la corteza adrenal y está regulada por la ACTH. Además, el citocromo 11 β -hidroxilasa/aldosterona sintetasa (CYP11B2) convierte la 11-desoxicorticosterona en corticosterona, 18-hidroxicorticosterona y aldosterona. La CYP11B2 se expresa en la zona glomerulosa y su actividad es controlada por el sistema renina-angiotensina, además de ser influenciada por una dieta baja en sodio o alta en potasio (Ogishima et al., 1989; Nonaka y Okamoto, 1991, 1992; Ogishima et al., 1992; Ho y Vinson, 1993; citado por Romero, 1999)

La vía biosintética de las hormonas córtico-suprarrenales es común en todos los mamíferos (Figura 7). En el caso de la corticosterona, se sintetiza a través de una vía compartida con la aldosterona (Romero, 1999).

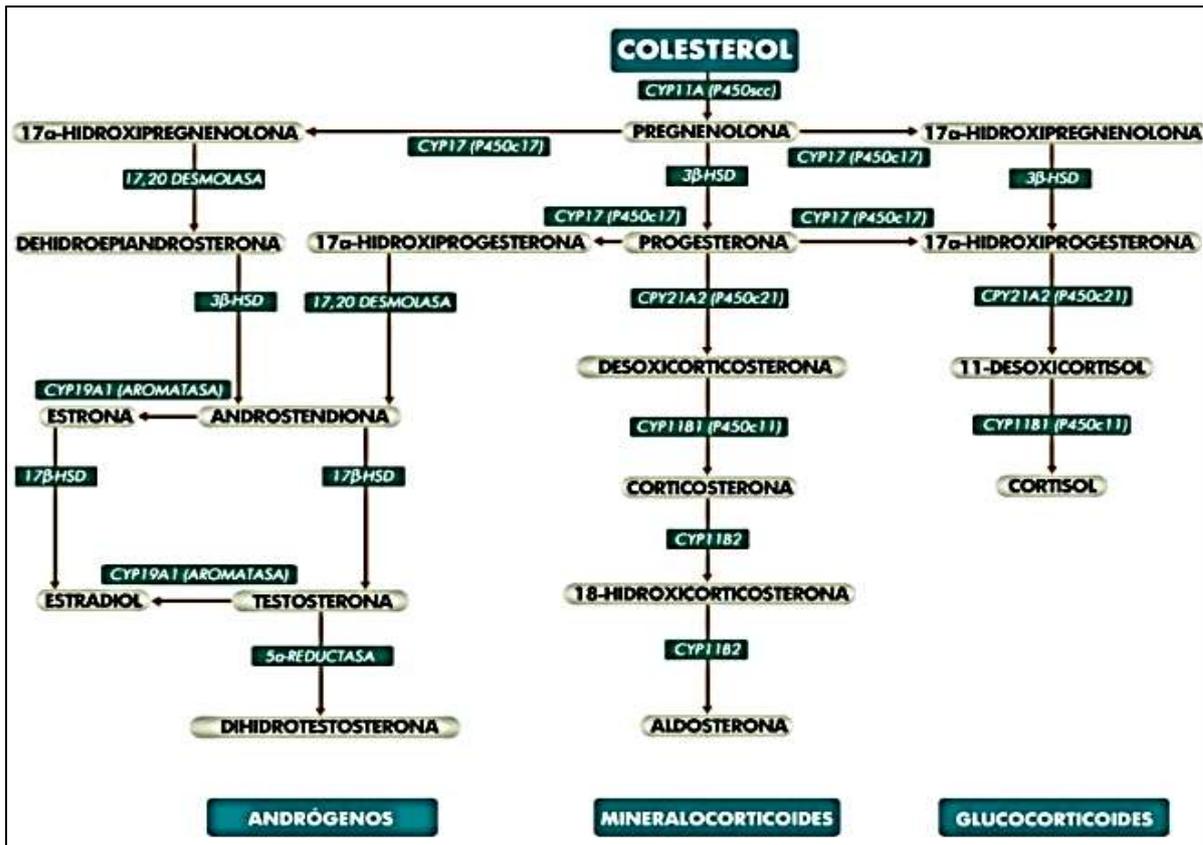


Figura 7. Hormonas córtico suprarrenales: Biosíntesis y participación de los enzimas.
Fuente: Gómez, Larrea y Martínez (2012)

B. Biosíntesis de hormonas esteroides gonadales

El ovario consta de tres regiones: la corteza externa con el epitelio germinal y los folículos, la médula central con tejido estromal y el hilio. Las “células de la granulosa y teca”, participan en la esteroidogénesis y forman el compartimento vascular que rodea a los ovocitos, separadas por la lámina basal (Carr, 1998; Weakly, 1966; citado por Gómez et al., 2012). Las funciones esenciales del ovario incluyen la formación de óvulos y producción de esteroides hormonales. Su estructura funcional es el folículo, compuesto por células de la teca, células de la granulosa y células intersticiales, que rodean al ovocito en crecimiento y cumplen un rol fundamental en su nutrición (Gore-Langton y Armstrong, 1994).

El ovario sintetiza una variedad de esteroides, entre ellos “pregnenolona, progesterona, 17α-hidroxi progesterona, 17α-hidroxi pregnenolona, dehidroepiandrosterona, androstendiona, testosterona, estrona y 17β-estradiol” (Baird y Fraser, 1969; Baird et

al., 1974; citado por Gómez et al., 2012). La influencia de varios factores, como hormonas esteroides, factores de crecimiento y citocinas, varía tanto cualitativa como cuantitativamente durante el ciclo ovárico, especialmente en la fase lútea. En esta etapa, el ovario cambia de ser un productor de estrógenos a enfocarse en la producción de progesterona. En los humanos, el proceso de esteroidogénesis ovárica sigue el modelo de la teoría de dos células/dos gonadotropinas (Ryan y Petro, 1966).

Las células de la teca requieren sintetizar androstendiona a partir del colesterol, bajo la influencia de la LH, como precursor para la producción de estrógenos. Estos andrógenos luego se difunden hacia el compartimento avascular de las células de la granulosa, donde, estimulados por la FSH, se convierten en estrógenos mediante la enzima aromatasa (CYP19) (Havelock, Rainey y Carr, 2004). Durante la fase lútea, las células de la granulosa se vuelven vascularizadas, lo que facilita el suministro de colesterol y aumenta la expresión de enzimas esteroidogénicas, promoviendo así la elaboración de progesterona y estrógenos a partir de los andrógenos de la teca (Figura 8). La FSH estimula a las células de la granulosa para producir estrógenos, fundamentales para el desarrollo folicular, la ovulación y los rasgos sexuales secundarios. En la fase progestacional, estas células, al luteinizarse, producen progesterona, esencial para mantener la preñez. Los andrógenos de la teca sirven como precursores de estas hormonas.. (Hu *et al.*, 2010).

Durante la ovulación, las células foliculares forman el cuerpo lúteo, que produce progesterona en respuesta a la LH mediante la vía AMPc/PKA. Además, existen vías dependientes de AMPc pero independientes de PKA, como en las células de la granulosa, donde factores específicos activan rutas como MAPK, PI3-K y PKB. La vía MAPK, estimulada por LH y hCG, regula la esteroidogénesis al activar ERK1/2 en las células de la granulosa luteinizadas. Durante su luteinización, la secreción de progesterona inducida por hCG se relaciona con una

menor expresión de PKA catalítica, lo que indica una menor dependencia de esta enzima en dicha fase (Chin y Abayasekara, 2004).

En estudios con ovejas como modelo animal, se ha identificado que el cuerpo lúteo contiene dos poblaciones celulares distintas. La primera responde a la LH, aumentando de 5 a 15 veces los niveles de progesterona en circulación. La segunda población se encarga de secretar cantidades suficientes de progesterona, pero no responde a la LH, a pesar de expresar receptores para esta hormona. (Niswender, 2002; citado por Gómez et al., 2012).

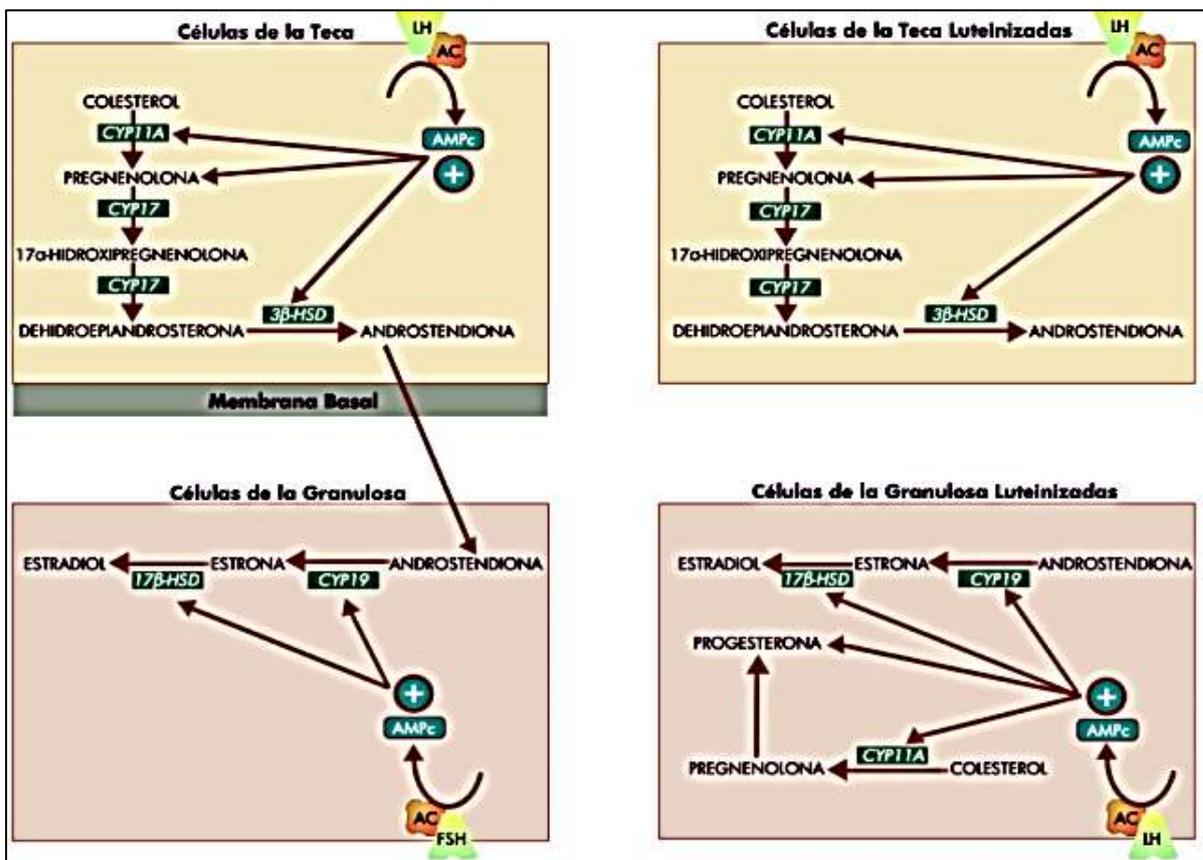


Figura 8. Esteroidogénesis ovárica en las fases folicular y lútea
Fuente: Gómez, Larrea y Martínez, (2012)

2.2.3 Hormonas esteroideas ováricas.

La endocrinología ovárica incluye dos hormonas esteroideas, los estrógenos y la progesterona, y una hormona proteica, la relaxina. Además, el ovario produce andrógenos, corticosteroides y otros esteroideos que parecen participar en el control del desarrollo folicular y en la función del cuerpo lúteo.

Recientemente, también se ha descrito la producción de oxitocina e inhibina en el ovario (Rosell, 2004).

2.2.3.1 Progesterona.

La progesterona, hormona esteroidea producida principalmente por el cuerpo lúteo, es fundamental para mantener la gestación. En algunas especies, como yeguas y ovejas, también se produce en la placenta al final de la gestación, reemplazando la función del cuerpo lúteo. Además, pequeñas cantidades de progesterona se encuentran en la corteza adrenal y en los testículos, actuando posiblemente como intermediario en la síntesis de otras hormonas (Martal y Cedard, 1993; Niswender *et al.*, 1994).

La progesterona presenta una “retroalimentación negativa sobre la liberación de LH”, aparentemente al disminuir la frecuencia de sus pulsos. Esta hormona también se libera de forma pulsátil, y durante la fase lútea, sus pulsos coinciden más con los de FSH que con los de LH. Esto apoya la idea de que la LH es la principal hormona luteotrópica (Rosell, 2004).

El mecanismo exacto de secreción de la progesterona aún no se conoce con certeza. Algunos autores sugieren que podría ocurrir por difusión pasiva del esteroide a través de la membrana plasmática o mediante transferencia luego de unirse a una molécula de proteína o lípido, aunque esto no ha sido completamente aclarado. Se cree que gran parte de la progesterona en circulación se encuentra conjugada en forma de ácido glucurónico (Harrison, *et al.*, 1972, citado por Rosell, 2004).

Como ocurre con otros esteroides, la progesterona no se almacena en el cuerpo y se excreta tras un proceso de reducción en el que el hígado desempeña un papel crucial. En casi todas las especies animales, el principal metabolito excretado de la progesterona es el pregnandiolo, que se elimina en la orina en forma de glucurónico. Debido a su rápida

desaparición en la circulación, es esencial que su destrucción se compense con una producción continua. Durante la gestación, una vaca puede llegar a secretar entre 100 y 300 mg de progesterona al día (Rosell, 2004).

A. Regulación de la síntesis de progesterona.

Los ovarios bovinos están inervados por nervios adrenérgicos, esenciales para apoyar la esteroidogénesis en las células de la granulosa y lúteas. Al perder esta inervación, la producción de esteroides ováricos disminuye. Durante la fase lútea, las concentraciones de noradrenalina (NA) y su precursor, dopamina (DA), varían: son más altas en el cuerpo lúteo temprano, bajan en la fase media y aumentan en los últimos días. El cuerpo lúteo también puede sintetizar NA a partir de DA, y la cantidad de β -receptores en el CL correlaciona con los niveles plasmáticos de progesterona (P4) durante el ciclo estral. La estimulación de estos receptores mediante infusión de NA, simulando estrés a corto plazo, aumenta rápidamente los niveles de P4 y oxitocina (OT) ovárica. Esta activación también incrementa la actividad de 3β -HSD, el citocromo P450_{scc} y la peptidil-glicina amida monooxigenasa (PGA), una enzima clave en la síntesis de OT. Simultáneamente, la P4 reduce la actividad de las enzimas monoamino oxidasa y catecol-O-metil transferasa, las cuales degradan catecolaminas, prolongando así la vida media de NA y potenciando su efecto sobre la síntesis de P4. La Figura 9 ilustra cómo diversas hormonas participan en la función de la célula lútea (Rekawiecki *et al.*, 2008).

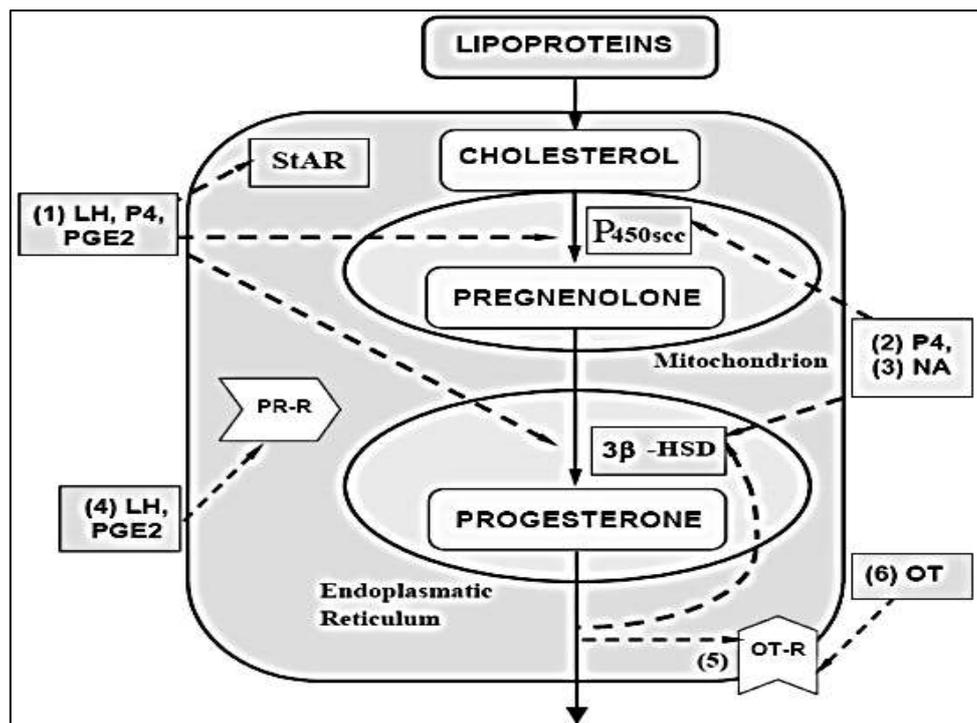


Figura 9. Regulación molecular de la síntesis de progesterona en la célula luteal bovina. LH, P4, PGE2 aumentan la expresión génica de StAR, citocromo P450scc y 3b-HSD, que son enzimas cruciales de la esteroidogénesis (1). La progesterona influye en su propia síntesis aumentando la actividad de P450scc y 3b-HSD (2). Aunque la noradrenalina (NA) estimula la secreción de progesterona y aumenta la actividad de P450scc y 3b-HSD (3), no afecta la expresión génica de PR-R (4). P4 aumenta el nivel de proteína para OT-R solamente, en los días 6-10 (5). Mientras OT estimula su propia expresión de génica en los días 11-16 (6). Fuente: Rekawiecki *et al.*, (2008).

2.2.3.2 Estrógeno (β -estradiol).

Los estrógenos, como su nombre sugiere, son sustancias que inducen el estro o celo en los animales. Esta hormona es responsable del desarrollo de los caracteres sexuales secundarios en las hembras, por lo que se la considera una hormona feminizante. En hembras no gestantes, el folículo es la principal fuente de estrógenos; durante la gestación, sin embargo, la placenta se convierte en el principal productor. Los estrógenos también se producen en el testículo y en pequeñas cantidades en las glándulas suprarrenales de ambos sexos. Sus niveles elevados están asociados con la manifestación del celo y el comportamiento de los machos. En ovejas, y luego en vacas, se ha

demostrado que la secreción de estradiol está estrechamente acompañada por la liberación de un pulso de LH (Rosell, 2004).

Los estrógenos producen diversas modificaciones morfológicas en los órganos genitales, como edema, hiperemia y crecimiento de células epiteliales y musculares. Estas hormonas estimulan la contractilidad uterina, aumentando la frecuencia y amplitud de las contracciones, efecto que también se observa en el oviducto. En el cuello uterino, bajo la influencia de los estrógenos, se segrega una gran cantidad de moco, que se vuelve más fluido y cristalizable (fenómeno de arborización) al secarse (Rosell, 2004).

Los estrógenos actúan como galactogogos en hembras que no están en producción de leche, pero como galactoinhibidores en aquellas que sí lo están. En vacas, cerdas y perras, los estrógenos tienen un efecto hipocalcémico. En aves, en cambio, los estrógenos producen un efecto hipercalcémico. (Rosell, 2004).

2.2.4 Regulación hormonal en el ciclo estral

En las vacas, el ciclo estral dura en promedio 21 días, aunque puede variar ligeramente; aproximadamente el 84% de los ciclos se encuentran en un rango de 18 a 24 días. Este ciclo regular es fundamental para la reproducción y se compone de las fases folicular y lútea, que coordinan los cambios hormonales y preparan al animal para la fertilización y la gestación (Rosell, 2004); autores como Sartori *et al.*, (2004) Se observa un promedio de 23 días para el ciclo estral en vacas lactantes y de 20.8 días en vaquillas, diferenciándose una fase folicular de 4 a 6 días y una fase lútea de 14 a 18 días (Figura 10).

Se observa un promedio de 23 días para el ciclo estral en vacas lactantes y de 20.8 días en vaquillas, diferenciándose una fase folicular de 4 a 6 días y una fase lútea de 14 a 18 días (Roche, 1996).

El comportamiento de celo tiene una duración aproximada de 12 a 16 horas, y la ovulación ocurre entre 10 y 15 horas después de que finaliza el celo (Kastelic, 1996, citado por Rosell, 2004). El ciclo estral, está dividido por tres fases (Hansel y Convey, 1983): lútea, preovulatoria y folicular.

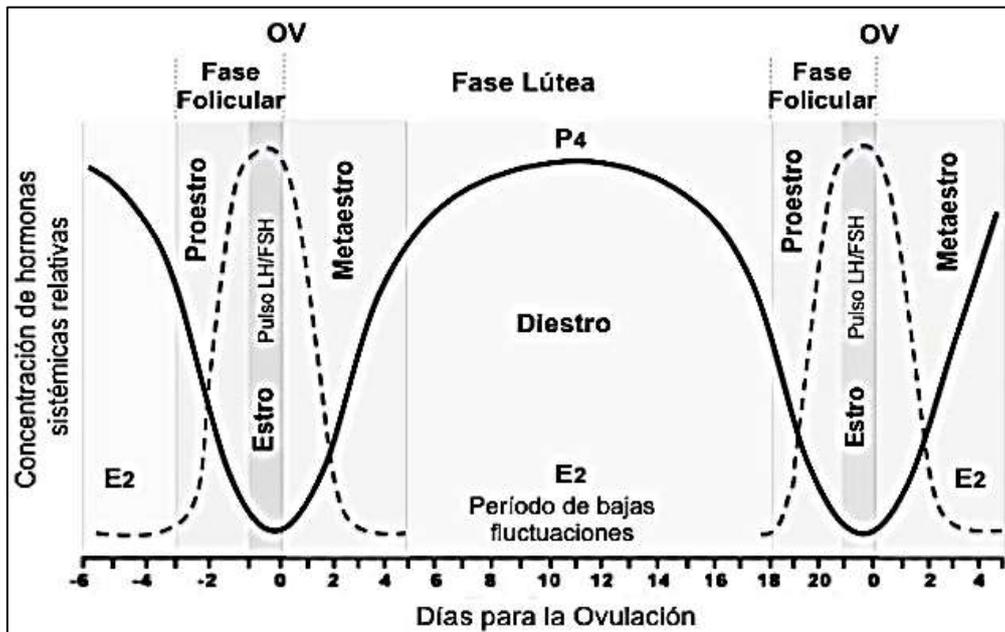


Figura 10. Ciclo estral bovino.
Fuente: Peter *et al.*, (2009)

A. Fase luteal.

La fase lútea, que ocupa aproximadamente el 80% del ciclo postovulatorio, incluye las etapas de metaestro y diestro, en las que el cuerpo lúteo se desarrolla y madura, ocurriendo una transición hormonal de estrógeno a progesterona, junto con ondas foliculares y variaciones de FSH y estradiol (Forde *et al.*, 2011; Peter *et al.*, 2009).

A.1. Metaestro

Comienza entre 5 y 6 días después de la ovulación, momento en el cual ocurre una intensa angiogénesis, junto con la proliferación y diferenciación de las “células de la granulosa y la teca” en el tejido del folículo ovulado. Esto da lugar a un aumento progresivo en las concentraciones plasmáticas de progesterona, pasando de menos de 1

ng/ml en el día tres a aproximadamente 3 ng/ml en el día seis posovulación (Adams *et al.*, 2008).

Durante la fase de luteinización, el folículo ovulado se convierte en el cuerpo lúteo, formado por células luteínicas que acumulan lípidos y pigmentos. La vascularización del cuerpo lúteo aumenta con una red capilar proveniente de los vasos de la teca interna, impulsada por un pico de LH y una reducción de FSH debido a bajos niveles de estrógenos y progesterona preovulatorios (Rosell, 2004 ; Padrón, 1990; Richards *et al.*, 1976).

La transformación del compartimento avascular de células de la granulosa en un cuerpo lúteo vascularizado es un proceso complejo que involucra factores angiogénicos y antiangiogénicos (Smith *et al.*, 1994, citado por Rosell, 2004). Durante este cambio, las células foliculares pasan por modificaciones estructurales y genómicas para diferenciarse en células luteales, que producen y liberan progesterona. Las células de la granulosa se convierten en células luteales grandes (CLG) y las células de la teca en células luteales pequeñas (CLP), ambas contribuyendo a la producción de esteroides (Stocco, Telleria y Gibori, 2007). En la vía esteroidogénica, las células luteales pequeñas (CLP) producen alrededor del 15% de la progesterona, mientras que el resto es generado por las células luteales grandes (CLG). Antes de la ovulación, las células de la granulosa del folículo se centran en la síntesis y secreción de estrógenos (Graham y Clarke, 1997).

El cuerpo lúteo contiene elementos vasculares y tejido conectivo; en su pico de producción de progesterona, los vasos representan un 11% de su volumen, mientras que el tejido conectivo ocupa entre un 22% y 29%, y los fibroblastos entre un 7% y 11% (Nett *et al.*, 1976; citado por Rosell, 2004).

El cuerpo lúteo contiene elementos vasculares, que ocupan alrededor del 11% de su volumen en el pico de producción de progesterona, junto con tejido conectivo y fibroblastos que representan entre el 22%-29% y

7%-11%, respectivamente (Niswender y Nett, 1976 y 1988; citado por Rosell, 2004).

El 17-estradiol actúa en las células de la granulosa aumentando sus receptores y promoviendo los de FSH. La FSH, a su vez, incrementa los receptores de FSH y LH en estas células, mientras que la LH reduce los receptores para estradiol, FSH y LH tras la estimulación inicial. Aunque la FSH también incrementa los receptores para prolactina, este efecto no ocurre en vacas. Además, derivados del ácido araquidónico como la prostaciclina (PGI₂) regulan la función luteal, estimulando la producción de progesterona, favoreciendo la angiogénesis y mejorando el flujo sanguíneo al ovario (Sartori *et al.*, 2004; Rosell, 2004)..

La síntesis y secreción de progesterona (P4) es un proceso complejo en el cual esta hormona es el primer compuesto activo de la biosíntesis esteroidal. El colesterol, aportado principalmente por las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y, en algunas especies, por las lipoproteínas de alta densidad (HDL) del hígado, es el sustrato inicial para producir P4 en el cuerpo lúteo. En bovinos, la formación temprana del cuerpo lúteo está asociada con el cuerpo hemorrágico, una cavidad temporal llena de sangre que se transforma y se vuelve homogénea al final del metaestro. Durante el aumento de P4, el endometrio se desintegra en áreas intercarunculares, generando un moco sanguinolento en la vulva, visible entre 24 y 48 horas después del estro en un alto porcentaje de vaquillas y vacas, sin correlación directa con la concepción (Peter *et al.*, 2009; Rosell, 2004).

A.2. Diestro

La fase lútea comienza tras el metaestro y finaliza con la regresión del cuerpo lúteo, que ocurre hacia los días 17 o 18 si no hay concepción, iniciando un nuevo ciclo estral. A lo largo de su vida, el cuerpo lúteo experimenta cambios en vascularización, composición celular e interacciones celulares (Fraser y Wulff, 2003). Su función principal, es la producción de progesterona, el esteroide clave de este órgano (Stocco

et al., 2007). Para mantener la gestación y evitar el comportamiento de celo, es esencial que el cuerpo lúteo libere suficientes niveles de progesterona durante la fase lútea. (Peter et al., 2009; Miyamoto, Shirasuna y Sasahara, 2009; Forde *et al.*, 2009).

Los niveles máximos de progesterona en el ciclo estral se observan durante la segunda y tercera ondas foliculares, alcanzando su punto más alto entre los días 10 y 14 después de la ovulación. Los niveles de progesterona disminuyen con la luteólisis provocado por $\text{PGF2}\alpha$, expuesta por el endometrio en animales no preñadas (Peter et al., 2009). En la fase lútea, hormonas como LH, GH, prolactina, IGF-I, oxitocina, PGE2 y PGI2 apoyan el desarrollo y función del cuerpo lúteo (Niswender et al., 2000). La LH incrementa la producción de progesterona en células luteales pequeñas mediante la PKA, mientras que las células luteales grandes responden a otros factores, debido a su activación constitutiva de PKA y alta producción de AMPc (Wiltbank et al., 1993).

Estudios sugieren que factores de crecimiento interveen en el fluido folicular regulado por la secreción de FSH, con la activina aumentando la producción de estradiol y la folistatina inhibiendo este efecto (Knight, 1996; Knight y Glister, 2003). La inhibina, producida en las células de la granulosa, suprime la FSH en la pituitaria, modulando el ciclo estral (Findlay et al., 2002). La progesterona, liberada de forma episódica, regula el desarrollo folicular mediante retroalimentación negativa en los pulsos de LH y previene la liberación prematura de $\text{PGF2}\alpha$, además de estimular receptores de LH en el cuerpo lúteo, evitando la apoptosis (Jones et al., 1992; Skarzynski *et al.*, 2001).

B. Fase Folicular

La fase folicular es el período que comienza después de la luteólisis y finaliza con la ovulación del folículo dominante, abarcando tanto el proestro como el estro (Forde et al., 2011; Peter et al., 2009). En realidad, esta fase comienza al final del ciclo anterior, cuando se inicia el evento más importante: un aumento significativo y progresivo de los

niveles circulantes de FSH. De este modo, la fase folicular incluye todas las etapas de desarrollo y maduración del folículo, lo que define el proceso de foliculogénesis, un proceso aparentemente continuo e irreversible. (Murphy y Pescador, 1996; citado por Rosell, 2004).

Las células de la granulosa en el folículo preantral tienen la capacidad de sintetizar tres tipos de esteroides, aunque en cantidades limitadas: andrógenos, estradiol (E2) y progesterona (P4). No obstante, la producción de estrógenos es significativamente mayor que la de andrógenos o P4 (McNatty *et al.*, 1979)

La fase posterior a la luteólisis comienza cuando los niveles de progesterona caen por debajo de 1 ng/ml. Durante esta fase folicular, el “estradiol actúa en el sistema nervioso central, el eje hipotálamo-pituitaria y el tracto reproductivo”, preparando para el estro, el transporte de gametos y embriones, y la fertilización. Los principales eventos son la “maduración del oocito, la ruptura folicular y ovulación, y el cambio de la esteroidogénesis hacia la producción de progesterona como hormona dominante”, impulsado por la regresión del cuerpo lúteo y el desarrollo de un folículo preovulatorio (Båge *et al.*, 2002; Ginther *et al.*, 2010; Peter *et al.*, 2009; Rathbone *et al.*, 2001)

B.1. Proestro

La fase folicular comienza con la regresión del cuerpo lúteo, lo que permite el desarrollo de un folículo preovulatorio, acompañado por una rápida disminución de progesterona, que alcanza niveles mínimos entre 36 y 48 horas tras la luteólisis (Wiltbank *et al.*, 2014). Durante esta fase, el folículo preovulatorio produce estrógenos bajo la influencia de gonadotropinas, alcanzando concentraciones máximas en un ambiente de baja progesterona (De Silva *et al.*, 1981). Niveles de estradiol incrementa el tono uterino (Bonafos, Kot y Ginther, 1995) y estimulan la liberación de GnRH desde el hipotálamo hacia la pituitaria, provocando el pico de LH y FSH necesario para la ovulación (Rathbone *et al.*, 2001). La luteólisis, un proceso dependiente del útero, es inducida por la prostaglandina (PGF2 α) liberada en respuesta a la oxitocina

hipofisaria, en un ciclo de retroalimentación positiva entre OT y PGF2 α que involucra al cuerpo lúteo y el útero (McCracken et al., 1999; Niswender et al., 2000). El “factor de necrosis tumoral alfa (TNF α)” también interviene en la luteólisis al promover PGF2 α y óxido nítrico, acortando el ciclo estral (Skarzynski et al., 2003).

La luteólisis inducida con prostaglandinas exógenas puede ocurrir en cualquier fase de la onda folicular, pero solo es eficaz si se aplica al menos seis días después del estro; de lo contrario, puede resultar en una regresión incompleta del cuerpo lúteo, aunque disminuyan las concentraciones de progesterona (P4) (Nascimento et al., 2014). La luteólisis natural se activa en presencia de un folículo dominante, generalmente comenzando a los 16.8 ± 0.4 días y finalizando a los 17.8 ± 0.4 días, coincidiendo con el estro y altos niveles de estradiol (Ginther et al., 2010). La P4 disminuye gradualmente hasta llegar a un valor basal de 0.1 ng/ml en unas 41 horas (Ginther et al., 2010). En los protocolos de sincronización con inseminación a tiempo fijo, una luteólisis incompleta es común cuando los niveles de P4 quedan por encima de 0.5 ng/ml tras la administración de PGF2 α , dificultando la fertilidad; niveles más altos de P4 en el momento de la aplicación se asocian con una luteólisis completa y mejores resultados de fertilidad (Martins et al., 2011).

B.2. Estro

Durante el estro, los niveles de estradiol alcanzan su punto máximo, lo que desencadena el pico preovulatorio de LH y FSH. Posteriormente, las concentraciones de estradiol comienzan a disminuir, manteniéndose más bajas que en el proestro (Rathbone et al., 2001). En vacas lecheras, el estro dura aproximadamente 8 horas, mientras que en novillas puede extenderse entre 12 y 14 horas. Factores como el ambiente, la superficie, el tamaño del hato, la presencia de machos, la paridad y la cantidad de animales en estro simultáneamente pueden influir en su duración e intensidad (Forde et al., 2011; Roelofs et al., 2005).

Durante el estro, los animales muestran comportamientos típicos como olfatear, montar o permitir que los monten, acompañados de signos secundarios como secreción mucosa y enrojecimiento de la vulva (Roelofs et al., 2005; Rathbone et al., 2001). En el folículo ovárico, el estradiol estimula la mitosis de las células de la granulosa, fomenta la formación de uniones gap, potencia la acción de la FSH y promueve la expresión de los receptores de LH y FSH (Goldenberg et al., 1972; Zhuang et al., 1982). La progesterona modula el efecto de los estrógenos, disminuyendo sus receptores y suprimiendo la conducta de estro cuando está en niveles elevados, al reducir los pulsos de GnRH (Bergfeld et al., 1996). Estradiol elevado y progesterona en valores basales activan la contracción y secreción en el oviducto, especialmente en el lado del folículo dominante (Bennett et al., 1988). Detectar el estro es esencial para la producción ganadera, pero es cada vez más difícil debido a su menor duración e intensidad, con tasas de detección inferiores al 50%. Esto ha impulsado el desarrollo de alternativas tecnológicas para mejorar la eficiencia en su identificación (Homer et al., 2013).

2.2.5 Semilla de Huayllabamba (*Plukenetia huayllabambana*)

Plukenetia huayllabambana spp. nov. es una especie del género de lianas y enredaderas de distribución pan tropical, rica en nutrientes, especialmente proteínas, aminoácidos, vitamina E, fitoesteroles y ácidos grasos esenciales omega 3, 6 y 9, en cantidades altas que resultan de gran importancia tanto nutricional como terapéutica, debido a sus efectos en el control de radicales libres y diversas enfermedades crónicas (Muñoz et al., 2010).

Plukenetia huayllabambana comparte algunas características con *Plukenetia stipellata* L.J. Gillespie y *P. volubilis* L., pero se distingue de ellas por varios rasgos. A diferencia de *P. volubilis*, presenta un mayor número de sépalos (5) en las flores estaminadas, y a diferencia de *P. stipellata*, tiene un ápice del pecíolo convexo sin glándulas, estilos más largos (8-12 mm) y filamentos más

anchos. Además, se diferencia de ambas especies por tener filamentos mucho más cortos (0.1 - 0.3 mm), frutos muy grandes (3x-4 x 4-6 cm) y semillas de gran tamaño con crestas pronunciadas (Bussmann, Téllez y Glenn, 2009)..

2.2.5.1 Distribución.

Plukenetia huayllabambana es conocida únicamente en la región de Amazonas, específicamente en las provincias de “Rodríguez de Mendoza, Bongará y Chachapoyas”. Crece en una combinación de gargantas ligeramente perturbadas y profundas, ubicadas en densos bosques nubosos a altitudes intermedias, entre los 1300 y 2200 metros sobre el nivel del mar. Esta especie ha sido encontrada en los distritos de Chirimoto, San Nicolás, Longar, Cochamal, Milpuc, Huambo, Mariscal Benavides, Yambrasbamba y Leymebamba (Los Chilchós). El norte de Perú parece ser un centro de alta diversidad para el género *Plukenetia*, y se requieren más colecciones para profundizar el conocimiento sobre su distribución (Muñoz *et al.*, 2013).

2.2.5.2 Origen.

La nueva especie, bautizada como *Plukenetia*, fue descubierta en la “cuenca del río Huayllabamba, un afluente del río Huallaga”, en la región de Amazonas en Perú. Esta área es conocida por su rica biodiversidad y elevado nivel de endemismo, lo que hace de la cuenca un lugar idóneo para encontrar especies únicas. La decisión de nombrar a esta planta *Plukenetia* también resalta su conexión geográfica y ecológica con el ecosistema del río Huayllabamba, que desempeña un papel importante en el mantenimiento de la diversidad biológica local. El hallazgo subraya la importancia de estas zonas de transición entre los Andes y la Amazonía, donde convergen una gran variedad de hábitats y especies exclusivas de la región.(Muñoz Jáuregui *et al.*, 2013).

2.2.5.3 Composición nutricional.

Las investigaciones sobre los beneficios de *Plukenetia volubilis* L., conocido como "sacha inchi", concluyeron que su aceite no presenta toxicidad en ratas tratadas durante 60 días con una dosis de 0,5 mL/kg. Además, los análisis bioquímicos revelaron que este tratamiento redujo los niveles de colesterol y triglicéridos, a la vez que aumentó el colesterol HDL en comparación con el grupo control (Gorriti et al., 2010). En otro estudio, Huamán et al. observaron que el consumo de sacha inchi reduce triglicéridos, colesterol total y LDL, mientras eleva el HDL en adultos jóvenes de 18 a 25 años. Asimismo, Huamán et al. (2008) demostraron que la ingesta de 5 y 10 mL diarios de una suspensión con 2 g/5 mL de aceite de sacha inchi, durante cuatro meses, redujo el colesterol total y ácidos grasos no esterificados, además de aumentar el HDL en pacientes con hiperlipoproteinemia.

El aceite de sacha inchi contiene 48.8% de grasa, 7.84% de humedad y 21.13% de proteínas, además de minerales como: "hierro (44.06 mg/100 g), zinc (38.78 mg/100 g), calcio (149.53 mg/100 g) y magnesio (2492 mg/100 g). En ácidos grasos, presenta 28.47% de ácido linoleico (omega 6), 9.8% de ácido oleico (omega 9) y 54% de ácido linolénico (omega 3)" (Muñoz et al., 2013. pág 3).

2.2.5.4 Usos.

Plukenetia spp., conocida en Perú como Sacha Inchi, también es llamada "maní del monte" o "Yuchi", que significa "maní forestal" (Brack Egg, 1999). *Plukenetia huayllabambana* se distingue por tener semillas muy grandes y un alto contenido de ácidos grasos. Esta planta podría convertirse en una excelente fuente adicional de proteínas y nutrientes para la población local, especialmente para los niños. Además de su valor nutricional, medicinal y cultural, esta especie podría representar una alternativa económica viable frente a cultivos ilegales. Actualmente, se encuentra únicamente en los hábitats de bosques nubosos naturales. Si se desarrollan métodos de cosecha sostenible, podría convertirse en una nueva fuente de ingresos para las

comunidades empobrecidas de Mendoza, constituyendo así un valioso producto para la conservación. (Bussmann et al., 2009).

2.2.6 Zapallo (*Cucurbita maxima*, variedad Duchesne).

2.2.6.1. Origen.

El zapallo, una planta nativa de los Andes, recibe su nombre científico *Cucurbita maxima*, que hace referencia al tamaño de su fruto, el cual puede llegar a pesar hasta 70 kg. El término "zapallo" proviene del quechua "sapallu". Esta planta incluye cuatro especies: *Cucurbita pepo*, *Cucurbita moschata*, *Cucurbita maxima* y *Cucurbita argyrosperma*, que corresponden a cuatro grupos de hibridación. Aunque no presentan grandes diferencias en su pulpa, el nombre "zapallo" se utiliza de manera generalizada en el sur de América hispana. Los registros más antiguos de su cultivo provienen de la cultura Las Vegas, en la península de Santa Elena (Ecuador), donde fueron estudiados en las décadas de los setenta y ochenta por la arqueóloga estadounidense Karen Stother. En la costa de Perú, se han encontrado restos que datan de más de 6000 a. C. La cultura mochica ya había domesticado el zapallo hace más de 2000 años.

Las civilizaciones precolombinas utilizaban las semillas de calabaza como un antihelmíntico natural. La cucurbitina, un aminoácido no proteico al 2% (3-amino-3-carboxipirrolidina) presente en las semillas, paraliza y desprende los parásitos de la pared intestinal. Este efecto antihelmíntico ha sido comprobado en humanos, caballos y bovinos, sin causar reacciones alérgicas ni toxicidad hepática. Las calabazas y sus semillas varían en forma, color y tamaño, dependiendo principalmente de la especie y la variedad cultivada. En América del Sur, las especies más cultivadas son *Cucurbita moschata* y *Cucurbita maxima*, mientras que en Europa, la

especie más común es *Cucurbita pepo*. (Lira et al., 1995) (Martinez et al., 2007).

2.2.6.2. Composición nutricional.

Una *Cucurbita maxima* contiene entre 150 y 200 semillas promedio, con un peso seco de 75 mg cada una. Estas semillas son ricas en proteínas y grasas, con niveles lipídicos superiores al 30%, lo que las hace adecuadas para ser incorporadas en las dietas de animales monogástricos. Además, contienen fitoesteroles y fitoestanoles, compuestos que reducen la absorción de colesterol en el intestino, mejoran su transporte y favorecen su eliminación del organismo. Diversas fuentes científicas destacan que estas semillas tienen un alto contenido de ácidos grasos, que son efectivos en la reducción de colesterol total, colesterol LDL (colesterol "malo") y triacilglicéridos (Martinez et al., 2007). Entre los ácidos grasos insaturados, los más relevantes son el omega 6, con un 49.26% (Bloeck et al., 2006), y el omega 3, con un 0.66%. (Ortiz et al., 2009).

2.2.6.3. Usos.

A. Uso en la alimentación humana.

Son una opción natural que aporta diversos beneficios para la salud. Contienen un “aminoácido llamado cucurbitina”, que facilita la eliminación de parásitos y tiene propiedades antiinflamatorias, especialmente útiles para aliviar problemas del sistema urinario y reducir la incomodidad de la cistitis. En Europa, se valoran por su capacidad para frenar el crecimiento de la próstata, además de su aceite, que es muy

apreciado tanto por sus efectos protectores sobre la salud prostática como por su uso en la cocina, especialmente en ensaladas. Este aceite es rico en ácidos grasos antiinflamatorios y, gracias a sus fitoesteroles y fitoestanoles, también contribuye a cuidar la salud cardiovascular, reduciendo la absorción de colesterol y promoviendo su eliminación natural (Martinez et al., 2007).

B. Usos en la alimentación animal.

Según la FAO (2009), aunque la producción mundial de alimentos ha aumentado más del 15%, los países en desarrollo enfrentan dificultades para acceder a las materias primas convencionales debido a precios altos en el mercado internacional. Esto ha impulsado la búsqueda de materias primas alternativas en la alimentación animal para sustituir importaciones, reducir la competencia con la alimentación humana y proteger el medio ambiente, lo que representa un desafío para nutricionistas y pequeños productores (Belmar, 1998).

Martínez et al. (2012) enriquecieron los huevos de gallinas White Leghorn (Híbrido L-33) con harina de semilla de Cucurbita maxima en diferentes niveles (0%, 3.3%, 6.6%, y 10%) durante 91 días. Los resultados mostraron un aumento en los ácidos grasos beneficiosos como el octadecanoico, oleico, linoleico y α -linolénico, y una reducción del ácido araquidónico. También disminuyó la relación de ácidos grasos saturados/poliinsaturados y la relación omega 6/omega 3.

CAPITULO III

DISEÑO Y CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS

3.1. Localización

La investigación se realizó en un establo “Agropecuaria del Rosario E.I.R.L” ubicado en el distrito de la Victoria perteneciente a la provincia de Chiclayo, considerada como la cuarta ciudad más poblada del Perú. Su clima es caluroso, húmedo, y lluvioso por estar cerca de la línea del Ecuador. La región tiene un clima subtropical, con temperaturas moderadas, seco y con pocas lluvias debido a vientos conocidos como "ciclones", que mantienen un clima agradable casi todo el año, excepto en verano, cuando las temperaturas suben. Cada 7 a 15 años, el Fenómeno del Niño provoca temperaturas superiores a 35°C, lluvias frecuentes y un aumento considerable en los niveles de los ríos.

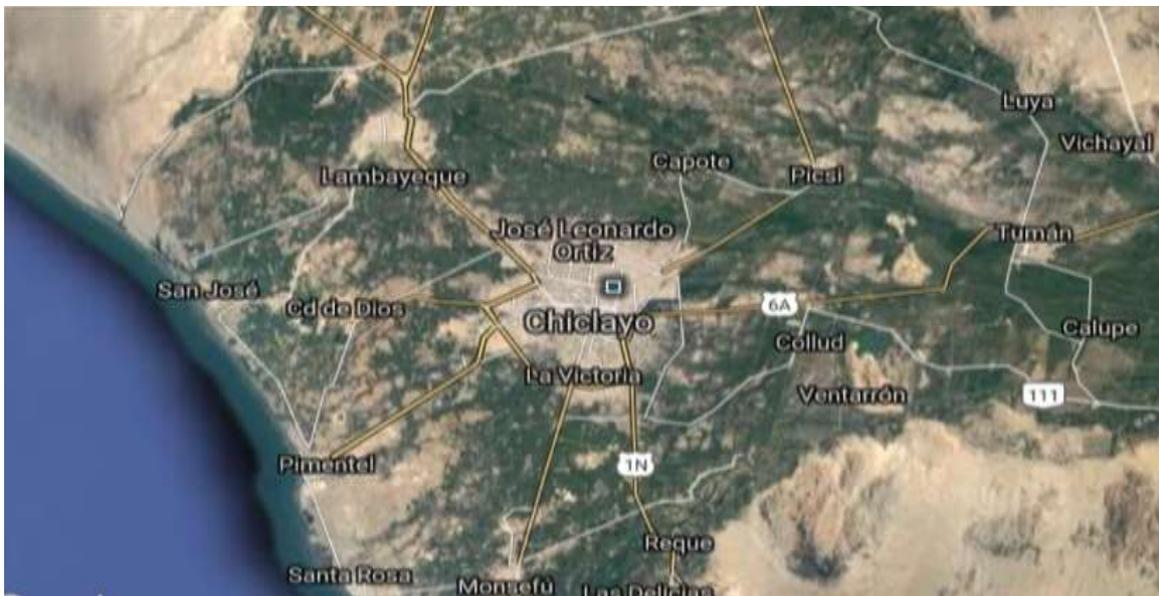


Figura 11. Mapa satelital de la provincia de Chiclayo
Fuente: Google maps (2018)

3.2. Materiales

3.3.1. Material Biológico

Se empleó a 27 vacas Holstein en lactación temprana de un establo de la ciudad de Chiclayo

3.3.2. Materiales de Campo

Se utilizó botas, registros de apuntes, chaquetas, jeringas hipodermicas, aceite de semilla de Huyallabambana, aceite de zapallo, sogas, nariceras, guantes obstétricos.

3.3.3. Materiales de laboratorio

Tubos sin anticoagulante, Tecnopor, gradillas, gel de hielo, pipetas, tubos de recolector de suero.

3.4. Metodología

3.4.1. Tipo de investigación

Según el propósito de esta investigación es aplicada; según el grado de control es experimental debido a que se trabajó dos grupos experimentales más un grupo control (testigo) y se manipuló la variable independiente (niveles de aceite de semillas de Huayllabamba y zapallo variedad *Duchesne*); según el nivel de conocimiento es explicativa, es decir se busca entender y dar razones científicas sobre el cómo y el por qué los omegas 3 y 6, provenientes de las semillas de Huayllabamba (*Plukenetia huayllabambana*) y zapallo (*Cucurbita maxima*), afectan el perfil hormonal ovárico, y por último según la duración de la investigación es de tipo es

Longitudinal de medidas repetidas porque los datos fueron recopilados observándose cambios a lo largo de un período de tiempo.

3.4.2. Criterio de inclusión y exclusión

Inclusión: Se tomó en consideración aquellos vacas Holstein que tuvieron más de un parto y que se encontraban iniciando la etapa lactación temprana (Después del parto hasta los 90 días).

Exclusión: No se tomó en consideración a terneras ni vaquillas Holstein ni aquellas que tengan problemas de quiste folicular.

3.4.3. Tamaño de muestra

La población estuvo conformada por vacas en producción de un establo ubicado en la provincia de Chiclayo, en donde por conveniencia se seleccionó al azar y teniendo los criterios de inclusión y exclusión a un total de 27 vacas Holstein de lactación temprana

3.4.4. Diseño procedimental y muestreo

3.4.4.1. Método de trituración por prensado.

Las semillas de zapallo estuvieron procesadas en la empresa Olivos del Sur, en Lima. Tras ser molidas, alcanzaron una medida entre 2.4 y 4.8 mm, adecuado para su ingreso a la prensa. Las muestras se deshidrataron en una estufa de vacío a 25 °C antes de ser prensadas. El aceite se extrajo en una sola etapa con una prensa de tornillo helicoidal alimentada por gravedad desde la tolva.

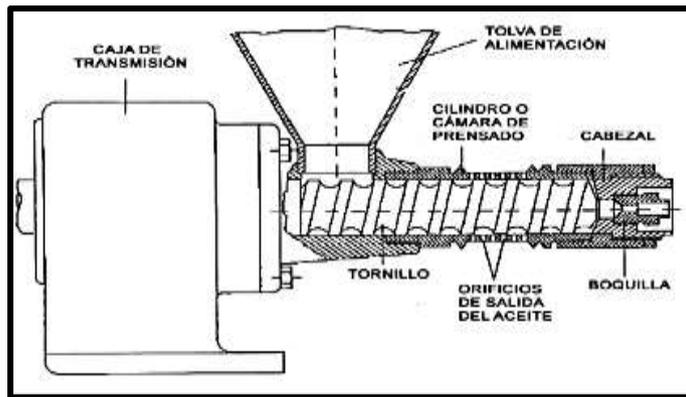


Figura 12: Esquema de la prensa de tornillo helicoidal empleada en la extracción de aceite.

Fuente: Martinez, M.L. (2010)

3.4.4.3. Grupos Experimentales

En este estudio, se establecieron tres grupos experimentales con el objetivo de evaluar los efectos del aceite en vacas lecheras en etapa posparto. Se incluyó un grupo control y dos grupos experimentales, cada uno integrado por 9 vacas. A los grupos experimentales se les administró aceite de Plukenetia huayllabambana y Cucurbita maxima var. Duchesne mediante inyección intramuscular en la pierna, siguiendo un intervalo regular de 15 días entre aplicaciones. Este protocolo permitió analizar cómo la administración periódica de estos aceites afectaba la recuperación y producción de las vacas posparto. Los detalles específicos de dosis, frecuencia y variaciones se presentan de forma detallada en la tabla 1, facilitando una revisión exhaustiva de la metodología utilizada para ambos aceites.

Tabla 1. Grupos tratados con diferentes dosis de aceite de semillas de Huayllabambana y Zapallo.

Grupo Experimental	Dosis (I.M)	Ácidos Grasos esenciales*	Nº Animales
Grupo control	0 ml		9
		Omega 3	
Grupo Experimental #1	1 ml/100 Kg.P. V de aceite de <i>Plukenetia de huayllabambana</i> y <i>Cucurbita maxima</i>	<i>Cucurbita maxima</i> = 0.66g/100ml y <i>P. huayllabambana</i> = 54.0 g/100 ml	9
		Omega 6	
Grupo Experimental #2	2 ml/100 Kg.P. V de aceite de <i>Plukenetia de huayllabambana</i> y <i>Cucurbita maxima</i>	<i>Cucurbita maxima</i> = 49.26g/100ml y <i>P. huayllabambana</i> = 28.47 g/100 ml	9
Total			27

3.4.4.5. Tiempo de administración de los aceites de *Cucurbita maxima* P. *huayllabambana*

La administración intramuscular de aceite de *Cucurbita maxima* y *Plukenetia huayllabambana* en vacas Holstein durante la lactación temprana se inició inmediatamente después del parto, continuando con aplicaciones cada 15 días hasta alcanzar los 90 días postparto. Este esquema de administración buscó aprovechar las propiedades bioactivas del aceite de estas semillas, particularmente sus ácidos grasos omega 3 y omega 6 en vacas de lactación temprana, una fase crítica para la recuperación reproductiva y la producción lechera.

Este procedimiento de aplicación intramuscular permitió una absorción sostenida y uniforme del aceite en el organismo, favoreciendo así el aprovechamiento de sus compuestos antiinflamatorios y de soporte hormonal en un periodo clave para la vaca, ya que el postparto es un momento de alta demanda metabólica y de ajustes endocrinos. La continuidad de esta administración en intervalos quincenales buscó asegurar niveles estables de estos nutrientes en el organismo, contribuyendo a optimizar la salud reproductiva de las vacas Holstein durante los primeros 90 días de lactación.

3.4.4.4. Toma de muestra de sangre

Considerando el ciclo estral de 18 a 24 días en bovinos (Forde et al., 2011) y las fases folicular (4-6 días) y lútea (14-18 días), se midió el perfil hormonal de la actividad ovárica mediante muestras de sangre tomadas de la vena coccígea en la mañana antes de alimentar a los animales (Childs et al., 2008). Las muestras se recolectaron en tubos vacutainer tras su extracción con jeringas estériles y se dejaron reposar 30 minutos a temperatura ambiente para la formación del coágulo, según la técnica de Padilla (2015).

Para la extracción de las muestras de sangre se tuvo en cuenta la metodología propuesta por diferentes autores como (Hafez & Hafez, 2000) Adams *et al.*, (2008) (Peter *et al.*, 2009) (Ginther *et al.*, 2010). Se procedió a medir la progesterona los días 0 (después de la presentación del celo) día 5, 10, 15 (Fase lútea) y 20 (Fase folicular); y para los estrógenos los días 18, 20, 21.

Luego se inseminaron las vacas y se midieron la concentración de progesterona en los días 12, 17 y 25 (Tabla 3) teniendo en consideración a lo señalado por Matamoros, Gomez y Andaur (2002)

Tabla 2. Metodología para obtener muestras sanguíneas de Holstein administradas con aceite de semillas de Huayllabambana y Zapallo.

Días	CICLO NORMAL						Post inseminación			
	Celo	Fase lútea			Fase Folicular					
	0	5	10	15	18	20	21	12	17	25

3.4.4.5. Obtención del suero sanguíneo

Una vez recolectados las muestras de sangre se procedió a colocar hielo a 4°C durante 12 h para su envío al laboratorio, luego se centrifugó a 1.500 rpm durante 15 min a 25°C para la recolección de suero. El suero se almacenó a -20°C hasta su respectivo análisis mediante la técnica de RIA (Radioinmunoanálisis) (Reis *et al.*, 2012).

3.4.4.6. Análisis hormonal a través de Radioinmunoanálisis (RIA)

En el procedimiento se tuvo en consideración lo establecido en el prospecto (inserto) del kit hormonal comercial:

Se etiquetaron los tubos recubiertos por duplicado para cada calibrador (S1-S6), suero control (C) y muestras (M), y opcionalmente se marcaron dos tubos sin recubrimiento para los totales (T). Luego, se añadieron 20 µL de calibrador, suero control y muestras por duplicado en los tubos correspondientes. A continuación, se agregaron 100 µL de trazador y 100 µL de antisuero en cada tubo, excepto en los

de totales (T). Este proceso no debe durar más de 5 minutos, y se recomienda el uso de una pipeta de repetición. Los tubos se fijaron firmemente en el agitador, que se encendió y ajustó para asegurar que el líquido en los tubos rotara o agitara constantemente. Los tubos se incubaron durante 1 hora a temperatura ambiente. Luego, se añadió 2 mL de solución de lavado a cada tubo, y se aspiró o decantó el líquido de todos los tubos (excepto T) invirtiendo la gradilla. Después, se colocó la gradilla sobre un papel absorbente durante 5 minutos en posición invertida. Finalmente, se midió la radiactividad de cada tubo durante 60 segundos en un contador gamma y se calculó la concentración de progesterona en las muestras según el procedimiento descrito.

3.4.4.7. Análisis de perfil lipídico a través del método enzimático - colorimétrico

Esta técnica se empleó para determinar niveles de colesterol plasmático, concentraciones de triglicéridos plasmáticos, niveles de lipoproteínas de alta densidad (HDL) y niveles de lipoproteínas de baja densidad (LDL) Plasmático (%), una vez obtenido los suero se colocaron junto con una enzima en tres tubos de fotocolorímetro o cubetas espectrofotométricas marcadas B (Blanco), S (Standard) y D (Desconocido), como se detalla en la tabla 4:

Tabla 3. Concentraciones de muestras (ul) en el protocolo para la evaluación del perfil lipídico.

	B	S	D
Standard	-	20 ul	-
Muestra	-	-	20ul
Reactivo de Trabajo	2 ml	2 ml	2 ml

Luego se incubo a 15 minutos en baño de agua maria a 37°C por 30 minutos y luego se dejó enfriar a temperatura ambiente.

Por último se procedió a leer en fotocolorímetro con filtro verde (490-530 nm) o en espectrofotómetro a 505 nm.

3.5. Análisis estadístico

Los resultados que se obtuvieron fueron sometidos al análisis de la variancia y las diferencias entre medias a través de la prueba de Tukey. Se utilizó el software SPSS Statistics® v.22.

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSION

Perfil lipídico en bovinos

Tabla 4. Concentraciones de colesterol (mg/dl) en vacas Holstein tratadas con distintas dosis de aceite de semillas de Huayllabambana y zapallo, según días del ciclo estral.

Días del ciclo Estral	Grupo control	Grupo 1	Grupo 2	Valor p
dia 0	101.22 ± 1.86 ^{dB}	103.00±1.66 ^{gB}	106.44±2.07 ^{gA}	0.000016
dia 5	123.33±1.50 ^{c,B}	126.78±1.56 ^{f,A}	128.33±1.32 ^{f,A}	6,3113E-7
dia 10	126.44±1.88 ^{c,C}	137.67±1.58 ^{e,B}	143.00±1.73 ^{e,A}	5,1366E-16
dia 15	150.11±3.14 ^{b,C}	171.33±1.66 ^{d,B}	174.78±2.11 ^{d,A}	2,6741E-14
dia 18	151.33±1.87 ^{b,C}	174.78±1.86 ^{c,B}	179.22±1.64 ^{c,A}	1,8549E-21
dia 20	152.44±2.69 ^{b,C}	180.67±1.94 ^{b,B}	182.89±1.27 ^{b,A}	2,3992E-21
dia 21	182.44±2.69 ^{a,C}	207.89±3.06 ^{a,B}	217.22±2.99 ^{a,A}	2,3064E-18
Valor p	5,8705E-57	8,9396E-72	5,527E-73	--

^{a,b,c,d,e,f,g} Medias con letras distintas en una misma columna presentan diferencias altamente significativas (**p<0.01), según la prueba de Tukey.

^{ABC}, Letras diferentes en una misma fila indican diferencias altamente significativas (**p<0.01), según la prueba de Tukey.

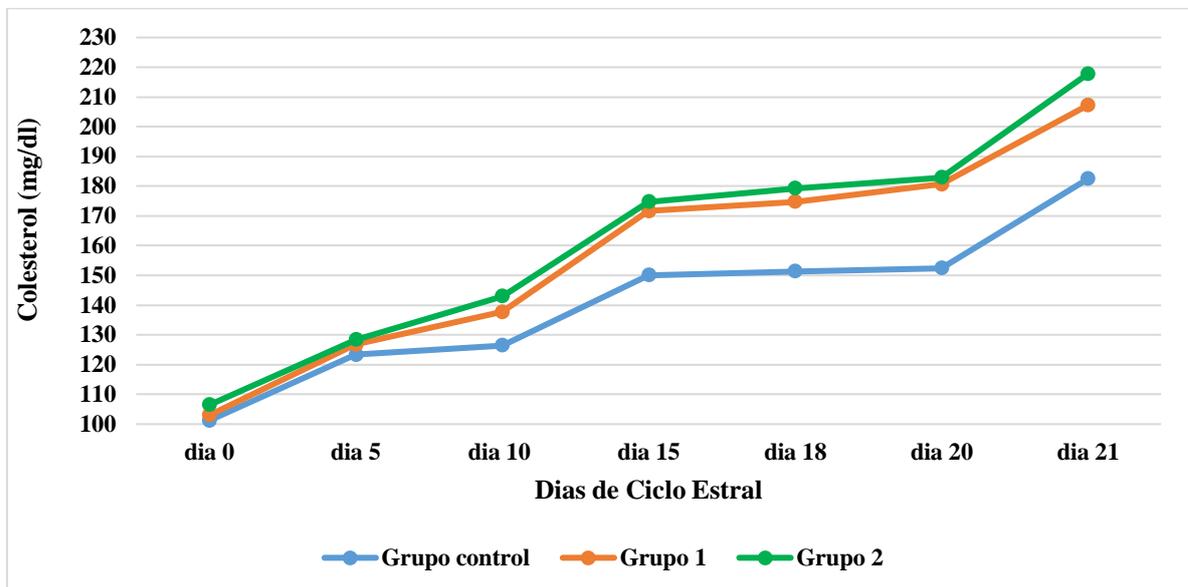


Figura 13. Comportamiento del colesterol (mg/dl) en vacas Holstein que recibieron diferentes dosis de aceite de semillas de Huayllabambana y zapallo, según el ciclo estral.

La ovulación en vacas es desencadenada por la actividad del eje hipotálamo-hipofisario, el cual libera gonadotropinas. Este proceso está influenciado por factores externos (como la estación del año y la alimentación) e internos (relacionados con la energía y el metabolismo), que afectan la actividad ovárica posparto. Históricamente, se ha investigado cómo estos factores impactan el funcionamiento del eje hipotálamo-hipofisario y el entorno hormonal y metabólico. Se ha demostrado que el colesterol juega un papel significativo en el estado reproductivo de las vacas, actuando como un precursor crucial en la producción de esteroides ováricos in vivo. (Kaneko, 1989; Domínguez, 1995). Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue examinar cómo las semillas de Huayllabambana (*Plukenetia huayllabambana*) y Zapallo (*Cucurbita maxima*) afectan el perfil lipídico. Se observó que en el grupo de vacas Holstein que recibieron 2 ml/100 kg P.V. de aceite de estas semillas, hubo un aumento significativo ($p < 0.01$) en los niveles de colesterol después de la ovulación, a los 5, 10, 15, 18 y 21 días del ciclo estral. Los niveles iniciales de colesterol eran 106.44 ± 2.07 mg/dl, alcanzando 217.22 ± 2.99 mg/dl al final del ciclo estral (ver Tabla 5 y Figura 13). Estos valores se mantuvieron dentro del rango de referencia (80-240 mg/dl) recomendado por Kaneko (1989). La variación en las concentraciones de colesterol durante el período posparto está influenciada por el estado energético de los animales, así como por su etapa productiva y reproductiva. Se observó un aumento significativo ($p < 0.01$) conforme avanzaban los días del ciclo estral y entre los distintos grupos que recibieron diferentes niveles de aceite de semillas, siendo más pronunciado en las vacas que recibieron una dosis de 2 ml/100 kg P.V.

Resultados similares a los reportado por Guédon *et al.*, (1999) quienes encontraron concentraciones elevadas de colesterol a medida que avanzaban los días de lactancia. Este fenómeno puede atribuirse al proceso de lactogénesis y al ordeño, junto con el metabolismo mamario de lipoproteínas ricas en colesterol, lipoproteínas lipídicas

y triglicéridos, como lo menciona Lammoglia *et al.*, (1997). Además otro estudio por Vann *et al.*, (2002) observó niveles elevados de colesterol en vaquillas que recibieron suplementación con aceite de soya, rico en ácidos grasos esenciales. En este grupo, las concentraciones de colesterol fueron de 244.49 ± 7.73 mg/dl, en comparación con el grupo control, que mostró niveles de 187.14 ± 7.60 mg/dl.

Tabla 5. Concentración de triglicéridos (mg/dl) en vacas Holstein que recibieron diferentes dosis de aceite de semillas de Huayllabambana y zapallo, según el ciclo estral.

Días del ciclo estral	Grupo control	Grupo 1	Grupo 2	Valor p
dia 0	$17.56 \pm 0.53^{d,A}$	16.22 ± 0.44^{eB}	15.44 ± 0.53^{eC}	1,7998E-8
dia 5	$19.33 \pm 0.71^{c,A}$	$18.11 \pm 0.60^{d,B}$	$16.11 \pm 0.60^{de,C}$	5,9603E-10
dia 10	$20.11 \pm 0.60^{c,A}$	$19.00 \pm 0.71^{c,B}$	$17.00 \pm 0.71^{d,C}$	3,1632E-9
dia 15	$22.56 \pm 0.53^{b,A}$	$21.44 \pm 0.53^{b,B}$	$18.00 \pm 0.50^{c,C}$	2,0377E-15
dia 18	$22.89 \pm 0.60^{b,A}$	$21.56 \pm 0.73^{b,B}$	$18.44 \pm 0.88^{bc,C}$	1,4075E-11
dia 20	$23.56 \pm 0.53^{b,A}$	$21.67 \pm 0.50^{b,B}$	$19.22 \pm 0.67^{ab,C}$	1,2107E-13
dia 21	$23.89 \pm 0.33^{a,A}$	$22.78 \pm 0.44^{a,B}$	$19.67 \pm 0.87^{a,C}$	2,538E-13
Valor p	2,9479E-37	1,5821E-34	5,042E-20	

^{a,b,c,d,e,f,g} Medias con letras distintas en una misma columna presentan diferencias altamente significativas (** $p < 0.01$), según la prueba de Tukey.

^{ABC}, Letras diferentes en una misma fila indican diferencias altamente significativas (** $p < 0.01$), según la prueba de Tukey.

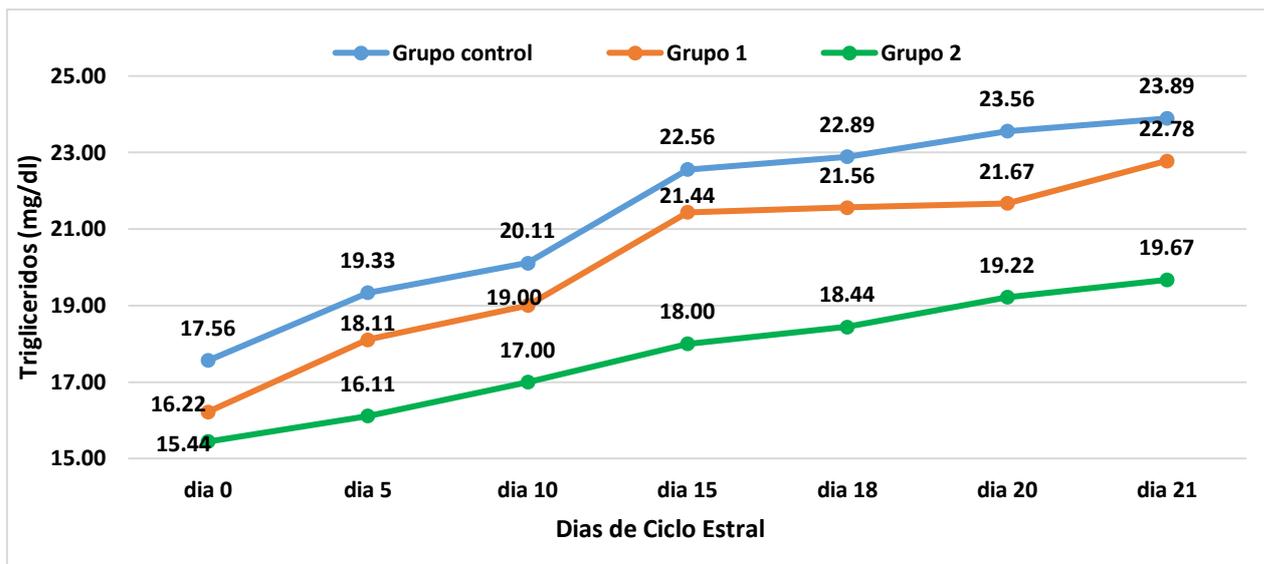


Figura 14. Comportamiento del trigliceridos (mg/dl) en vacas Holstein que recibieron diferentes dosis de aceite de semillas de Huayllabambana y zapallo, según el ciclo estral.

EL grupo control que no recibieron aceite de semillas de Huayllabambana (*Plukenetia huayllabambana*) y Zapallo (*Cucurbita maxima*) obtuvo mayores concentraciones ($p < 0.01$) en comparación con los grupos experimentales (G1 y G2). Notándose que el grupo que se le administro 2 ml mostro concentraciones menores ($p < 0.01$) después de la ovulación (día 0) y en los días 5, 10, 15, 18 y 21 del ciclo estral, comenzando en 15.44 ± 0.53 mg/dl y alcanzando 19.67 ± 0.87 mg/dl al final del ciclo estral (ver Tabla 5 y Figura 14).

Estos resultados se encuentran dentro de los valores de referencia mencionados por West et al., (1991), quienes mencionan concentraciones de hasta 26.52 mg/dl para vacas Holstein y 24.65 mg/dl para vacas Jersey en la etapa posparto (lactancia temprana). Además, se observó que en los días 15, 18 y 20 del ciclo estral, las concentraciones de triglicéridos en los grupos 1 y 2 se mantuvieron casi constantes, sin diferencias significativas en esos días. Esto podría deberse a que en esos días la mayoría de las vacas estaban en su pico de producción, lo cual concuerda con estudios como el de Guedón et

al., (1999), que las concentraciones de triglicéridos en sangre permanecen constantes, debido a cambios fisiológicos severos, incluyendo la activación hormonal de progesterona y estrógenos, así como la mayor demanda metabólica para la producción de leche.

Tabla 6. Lipoproteínas de Alta Densidad (HDL) en vacas Holstein que recibieron diferentes dosis de aceite de semillas de Huayllabambana y zapallo, según el ciclo estral.

Días del ciclo estral	Grupo control	Grupo 1	Grupo 2	Valor p
dia 0	56.67±1.80 ^{e,C}	59.56±1.33 ^{e,B}	63.33±1.00 ^{f,A}	2,7293E-9
dia 5	63.44±1.51 ^{d,B}	64.44±1.67 ^{d,B}	71.44±1.01 ^{e,A}	1,3967E-11
dia 10	65.00±1.58 ^{d,C}	73.44±2.01 ^{c,B}	77.78±1.92 ^{d,A}	7,0599E-13
dia 15	67.56±1.81 ^{c,C}	77.78±2.11 ^{b,B}	80.33±1.66 ^{c,A}	3,8741E-13
dia 18	68.44±1.13 ^{bc,C}	78.00±1.94 ^{b,B}	81.22±1.72 ^{bc,A}	2,8193E-14
dia 20	70.11±0.60 ^{ab,C}	80.00±1.50 ^{ab,B}	82.78±1.64 ^{b,A}	2,7584E-16
dia 21	71.22±1.20 ^{a,C}	81.56±1.24 ^{a,B}	85.33±1.41 ^{a,A}	1,5637E-17
Valor p	7,0468E-29	8,0324E-37	1,364E-37	

^{a,b,c,d,e,f,g} Medias con letras distintas en una misma columna presentan diferencias altamente significativas (**p<0.01), según la prueba de Tukey.

^{ABC}, Letras diferentes en una misma fila indican diferencias altamente significativas (**p<0.01), según la prueba de Tukey.

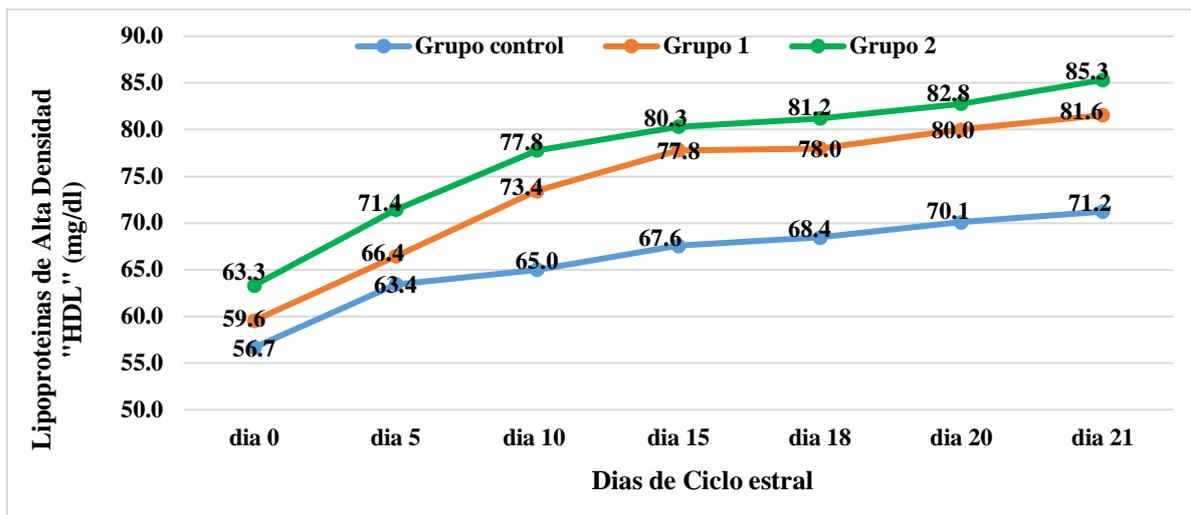


Figura 15. Lipoproteínas de Alta Densidad (HDL) en vacas Holstein que recibieron diferentes dosis de aceite de semillas de Huayllabambana y zapallo, según el ciclo estral.

Durante la fase inicial de la lactancia, se presenta una insuficiencia de energía metabólica, ya que la vaca no puede satisfacer sus necesidades únicamente a través de la alimentación (Rossato, 2000; Mudron *et al.*, 2004), por esta razón, niveles elevados de hormonas lipolíticas (como el lactógeno placentario, la prolactina y la hormona de crecimiento) contribuyen a mantener un equilibrio metabólico hormonal al estimular la movilización de las reservas de grasa. (Contreras, 1998), y cuando las vacas están produciendo altos volúmenes de leche y reciben una dieta que proporciona los nutrientes adecuados, especialmente lípidos, la falta de estos nutrientes puede tener consecuencias negativas en la ovulación, la tasa de concepción y la fertilidad (Boland y Lonergan, 2003). Es por ello que la presente investigación se administraron dosis (1 y 2 ml/100 kg P.V) de aceites de semillas de zapallo y de huayllabambana para suplir alguna deficiencia de nutrientes en especial ácidos grasos esenciales, los cuales son difíciles de que los mamíferos lo puedan sintetizar por sí mismo (Montes, 2012). Por lo tanto, el presente estudio encontró que el grupo de vacas Holstein que se le administraron 2ml/100 Kg P.V de aceite de semillas de semillas de Huayllabambana (*Plukenetia huayllabambana*) y

Zapallo (*Cucurbita maxima*) mostraron concentraciones altas ($p < 0.01$) de Lipoproteínas de Alta Densidad (High-Density Lipoprotein, siglas en inglés HDL) en comparación con los otros grupos. También se pudo observar que durante los días de muestreo de HDL se observaron un aumento después de su celo 0, así como los 5, 10, 15, 18 y 21 días del ciclo estral, comenzando con 63.33 ± 1.00 mg/dl hasta llegar al final de su ciclo estral con 85.33 ± 1.41 mg/dl de HDL, diferencias que son altamente significativas (Tabla 7 y Figura 15).

Resultados superiores a lo reportado por Galvis, Agudelo y Saffon, (2007) donde examinaron a vacas que recibieron dietas fortificadas con ácidos grasos esenciales (omega 3 y 6) y se midieron los niveles de HDL a los 10, 20, 30, 40 y 50 días después del parto. Se encontraron valores que oscilaban entre 31.29 mg/dl y 58 mg/dl de HDL, y se observó un aumento gradual en los niveles de HDL a medida que avanzaba el período de lactancia, lo cual concuerda con los hallazgos de este estudio.

También podemos decir que los resultados encontrados en el presente estudio son similares a lo reportado por Vann *et al.*, (2002) encontrando que la concentración de HDL fue mayor en vaquillas de carne que recibieron suplementación con aceite de soya durante 45 días, el cual contiene ácidos grasos esenciales, alcanzando un valor de 84.0 ± 3.49 mg/dl de HDL, en comparación con el grupo de control que registró 72.35 ± 3.43 mg/dl de HDL. Esto se debe a que las lipoproteínas de alta densidad en bovinos constituyen la mayor fracción de las lipoproteínas (aproximadamente el 80 %) y contienen alrededor del 60 % del colesterol. Las concentraciones plasmáticas de HDL están asociadas con la utilización del colesterol por parte del bovino., tal como lo menciona Ramírez *et al.*, (2006).

Por otro lado Bauchart (1993); Basoglu et al., (1998) observaron niveles bajos de HDL al momento del parto, seguidos de un aumento gradual hasta alcanzar su punto máximo en la etapa de lactancia tardía. Este mismo patrón se observó en los niveles de colesterol y lipoproteínas durante la lactancia. Este fenómeno se atribuye principalmente al importante papel que desempeñan los lípidos en la lactancia. Se entiende que su metabolismo comienza en el hígado y luego se transporta a los tejidos periféricos, proceso que depende en gran medida de las lipoproteínas de muy baja densidad. (Very-low-density lipoprotein, siglas en inglés VLDL); ante este evento las explicaciones para los niveles elevados de HDL en vacas lactantes es: 1) incremento los reservorios de Apo C (apoproteína constitutiva de la HDL), 2) aumento en la utilización de VLDL por la glándula mamaria, y 3) mayor síntesis y secreción de HDL hepática en respuesta a la lactancia, tal como lo manifiestan Raphael et al., (1973) y Galvis, et al., (2007).

Tabla 7. Lipoproteínas de Baja Densidad (LDL) en vacas Holstein que recibieron diferentes dosis de aceite de semillas de Huayllabambana y zapallo, según el ciclo estral.

	Grupo control	Grupo 1	Grupo 2	Valor p
dia 0	124.11±1.45 ^{d,A}	121.00±1.66 ^{d,B}	118.11±1.61 ^{d,C}	1,4646E-7
dia 5	125.66±1.41 ^{d,A}	122.67±1.32 ^{d,B}	119.00±3.91 ^{d,C}	0,000041
dia 10	128.22±0.97 ^{cd,A}	124.00±1.00 ^{cd,B}	120.78±3.70 ^{d,C}	0,000002
dia 15	131.89±2.09 ^{c,A}	125.67±4.30 ^{c,B}	123.11±3.26 ^{cd,B}	0,000032
dia 18	137.56±0.88 ^{b,A}	130.67±2.06 ^{b,B}	125.67±2.39 ^{bc,C}	7,6649E-12
dia 20	148.11±1.90 ^{a,A}	135.67±1.22 ^{a,B}	130.00±1.80 ^{b,C}	2,6082E-17
dia 21	141.44±7.09 ^{bA}	132.56±5.88 ^{ab,B}	124.44±6.02 ^{a,C}	0,000036
Valor p	2,7616E-25	2,3969E-20	1,4441E-18	

^{a,b,c,d,e,f,g} Medias con letras distintas en una misma columna presentan diferencias altamente significativas (**p<0.01), según la prueba de Tukey.

^{ABC}, Letras diferentes en una misma fila indican diferencias altamente significativas (**p<0.01), según la prueba de Tukey.

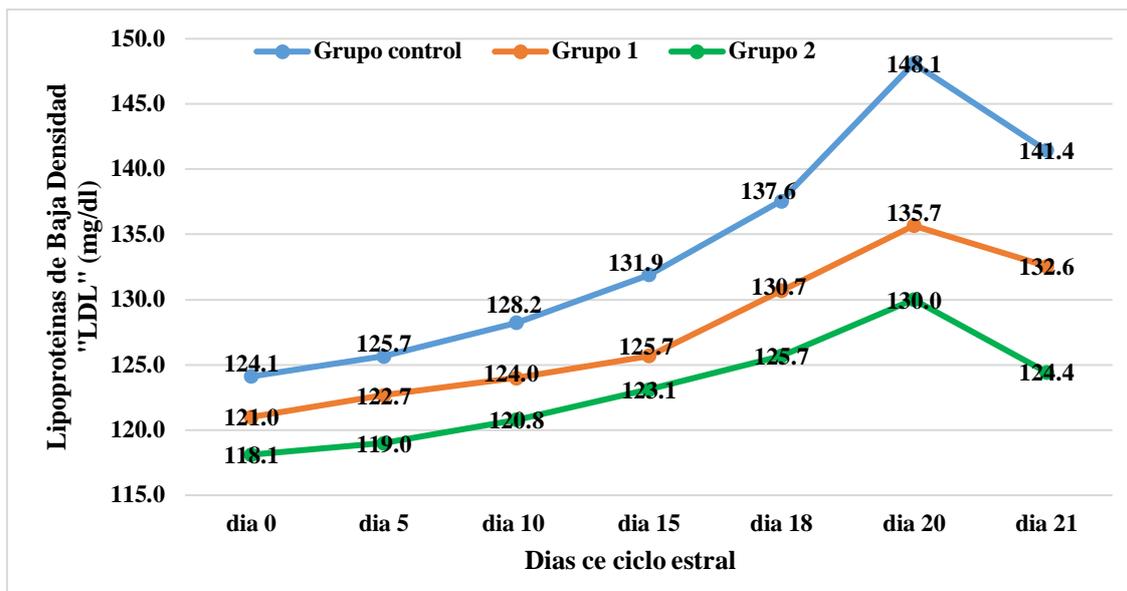


Figura 16. Comportamiento de Lipoproteínas de Baja Densidad (LDL) en vacas Holstein que recibieron diferentes dosis de aceite de semillas de Huayllabambana y zapallo, según el ciclo estral.

Como se había mencionado anteriormente la importancia del colesterol el cual puede ser utilizado como un indicador nutricional en bovinos y como hemos observado que sus concentraciones plasmáticas dependen del tipo y la calidad de la dieta, especialmente los ácidos grasos insaturadas; según lo manifestado por Coppo (2003), los bovinos presentan un metabolismo inverso al humano, pues estos últimos presentan mayores niveles de colesterol LDL como respuesta a raciones altas de grasa, sin considerar la calidad de grasa consumida como parte de la dieta. Dicho esto el presente estudio se encargó de evaluar el efecto en el perfil lipídico sérico en vacas administradas dosis (1 y 2 ml/100 kg P.V.) de aceite de semillas de zapallo y huayllabambana, vía intramuscular, observando que el grupo con dosis de 2 ml/100 kg P.V) de aceites de semillas de zapallo y de huayllabambana mostraron concentraciones bajas ($p < 0.01$) de Lipoproteínas de Baja Densidad (Very-Low-Density lipoprotein, siglas en ingles LDL) en comparación con los otro grupos (Control y Grupo 1); observándose también en el

grupo 2, una aumento de LDL después de su celo 0 (118.11 ± 1.61 mg/dl), hasta los 20 días (130.00 ± 1.80 mg/dl) para luego presentar una aumento en el día 21 del ciclo estral (124.44 ± 6.02), diferencias que son altamente significativas (Tabla 8 y Figura 16).

Una alta concentración de estrógenos en vacas lactantes al final de la gestación favorece el aumento de los receptores de LDL, lo que provoca una reducción de las concentraciones plasmáticas de estas lipoproteínas (Rayssiguier, Mazur y Gueux, 1988). Tras el parto, los niveles de estrógenos disminuyen, lo que lleva a una disminución de los receptores de LDL y, como resultado, a un incremento gradual en la concentración plasmática de LDL durante la lactancia temprana (Osorio y Vinazco, 2010), tal como presento en la investigación donde observamos que en el día 21 del ciclo estral es donde se encuentran estrógenos en sus máximas concentraciones que van de 19.72 ± 0.97 a 27.90 ± 1.00 (Tabla 10) y esto va influir fisiológicamente el aumento de los receptores para LDL entonces en la Figura 16 observamos que el día 20 y 21 del ciclo estral una mayor cantidad concentraciones de LDL.

Investigadores como Henao *et al.*, (2010) Se ha confirmado que el aumento de las concentraciones plasmáticas de LDL influye indirectamente en la disminución de sus receptores, mostrando una relación inversa con la condición corporal, la cual disminuye a medida que avanza la lactancia. Por esta razón, es crucial realizar evaluaciones de lipoproteínas (LP) para obtener una comprensión más precisa del estado fisiológico y productivo de los bovinos, siguiendo las recomendaciones del National Cholesterol Education Program (NCEP). Además, la relación entre el colesterol LDL y el colesterol HDL resulta ser tres veces más sensible que la que se obtiene al medir únicamente el colesterol total. A diferencia de los humanos, donde los niveles elevados de colesterol aumentan el riesgo de enfermedades cardiovasculares, especialmente aterosclerosis, debido a la relación inversa entre los niveles de HDL y LDL, en los bovinos, los niveles

bajos de HDL también se asocian con un mayor riesgo de afecciones cardiovasculares como la aterosclerosis y eventos coronarios agudos (Lizarazu, Rivera y Torres, 2002). En bovinos, este desequilibrio puede provocar diversos problemas reproductivos, como retención de placentas, abortos, mastitis en el posparto, distocias, cetosis y desplazamiento del abomaso. Por lo tanto, es fundamental proporcionar una dieta que cubra las necesidades básicas del animal, para evitar el exceso de concentrados que podrían elevar los niveles de lipoproteínas derivadas del metabolismo y la actividad ruminal. (Contreras, 1998)

Perfil hormonal ovárico en bovinos

Tabla 8. Concentraciones de progesterona (ng/ml) en vacas Holstein que recibieron diferentes dosis de aceite de semillas de Huayllabambana y zapallo.

Concentraciones de progesterona (ng/ml) en un Ciclo Estral Normal							
Grupos	Día 0	Día 5	Día 10	Día 15	Día 18	Día 20	Día 21
Control	0.18±0.02 ^c	2.53±0.17 ^c	5.70±0.17 ^c	9.70±0.53 ^c	1.74±0.25 ^c	0.18±0.05 ^b	0.14±0.04 ^c
Grupo 1	0.19±0.01 ^b	3.20±0.25 ^b	7.80±0.20 ^b	14.03±0.60 ^b	3.36±0.28 ^b	0.28±0.04 ^a	0.22±0.03 ^b
Grupo 2	0.21±0.01 ^a	3.50±0.28 ^a	8.47±0.16 ^a	14.88±0.24 ^a	3.71±0.20 ^a	0.31±0.05 ^a	0.27±0.02 ^a
Valor p	0.000491	3.38E-04	2.73E-17	1,2346E-17	1.06E-10	0.000012	5.54E-04

^{a,b,c,d,e,f,g} Medias con letras distintas en una misma columna presentan diferencias altamente significativas (**p<0.01), según la prueba de Tukey.

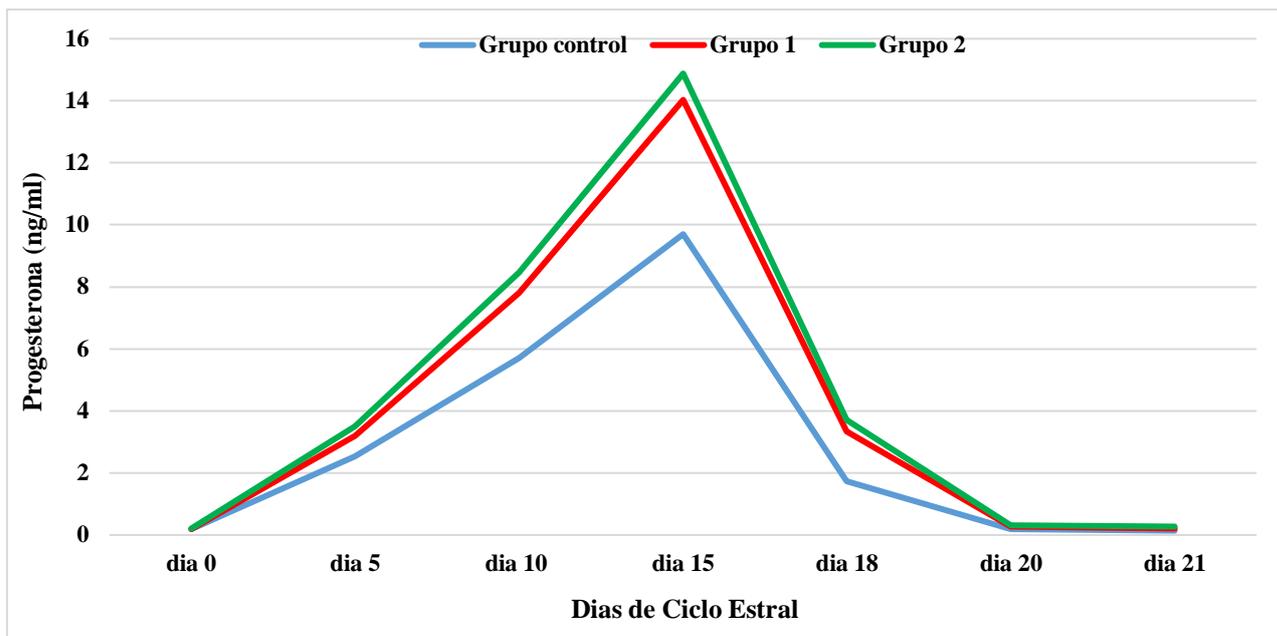


Figura 17. Comportamiento de Progesterona (ng/ml) en vacas Holstein que recibieron diferentes dosis de aceite de semillas de Huayllabambana y zapallo, según el ciclo estral.

Diverso estudios como la de Portillo (2013) han mencionado que la suplementación con lípidos incrementa la concentración total de colesterol en vacas y hembras de otras especies aumentando las concentraciones de colesterol, influyendo directamente en el incremento de la concentración de hormonas como la progesterona. Además afecta directamente en la ovulación el desarrollo de folículos más grandes, y con ello un incremento en la esteroidogénesis tal como lo menciona Zarate *et al.*, (2011). En el presente estudio se observó que el grupo 2 donde se le administró de forma parenteral (Intramuscular) las vacas a una dosis de 2 ml / 100 Kg P.V. de aceite de semillas de semillas de Huayllabambana (*Plukenetia huayllabambana*) y Zapallo (*Cucurbita maxima*), aumentaron sus niveles de progesterona durante el ciclo estral, y además se encontró que en los días 10 y 15 del ciclo estral concentraciones altas de progesterona por el grupo 2, con diferencia altamente significativa al ser comparados con el grupo control

(G0) y grupo 1 (1 ml / 100 Kg P.V. de aceite de semillas de semillas de Huayllabambana y Zapallo), descritos en la tabla 9 y representado en la figura 17.

Estudios que se relacionan con la presente investigación, tenemos a lo reportado por Lammoglia *et al.*, (1997) que evaluaron a 37 vacas con dietas de diferente concentración de ácidos grasos, una de ellas con 3,74% (baja concentración grasa), la segunda con 5,20% (mediana concentración grasa) y otra con 6,55% (alta concentración grasa), evidenciado que el colesterol fue alto en el día 7 con $115,6 \pm 6,2$ mg/dL en aquellas vacas que recibieron la dieta con alta concentración de grasas; encontrándose además mayor concentración plasmática de progesterona casi abordando los 8 ng/ml en el día 15 del ciclo estral.

Estos resultados beneficiosos que se encontraron en el presente estudio, gracias a la administración del aceite de Semilla de Huayllabambana y zapallo con contenido alto de AGPI omega-3 y 6, se deben a que afectan a una serie de factores asociados con la síntesis y el metabolismo de importantes hormonas reproductivas como las hormonas esteroides, la progesterona (P4) y el estradiol (E2), tal es así que dietas altas o administraciones con dosis altas de n-3 están asociadas con altas concentraciones plasmáticas de colesterol (Robinson *et al.*, 2002; citado por Gulliver *et al.*, 2012), lo que conduce a la síntesis de hormonas esteroideas, ya que el colesterol es un precursor tanto para P4 como para E2 (Staples *et al.*, 1998).

Sin embargo, la interacción de omega 3 con la producción y el metabolismo de la hormona esteroidea puede complicarse aún más por retroalimentación negativa, ya que E2 puede reducir la actividad de la $\Delta 6$ - desaturasa reduciendo así la disponibilidad de Cadena n-3 sustratos para la síntesis de la serie-3 eicosanoides (González *et al.*, 1986, citado por Gulliver *et al.*, 2012). La serie-3 eicosanoides es importante debido a que

influir en la síntesis y secreción de prostaglandinas mediante el desplazamiento del ácido araquidónico, el precursor de la PGF 2 α luteolítica , o mediante la competencia por las enzimas necesarias para la PGF 2 α . biosíntesis (Mattos *et al.*, 2003). El ácido eicosapentaenoico (EPA), que es el precursor para la síntesis de prostanoides de la serie 3, que incluyen Prostaglandinas (PGF3 α y PGE3), tienen tres dobles enlaces en la cadena de carbono, a diferencia de los dos dobles enlaces que se encuentran en los prostanoides de la serie 2. La mayor disponibilidad de PUFA n-3, como EPA y ácido docosahexaenoico (DHA), en los fosfolípidos de membrana podría inhibir la secreción de PGF2a a través de tres mecanismos(Mattos *et al.*, 2003).

Tabla 9. Concentraciones de Estradiol (pg/ml) en vacas Holstein que recibieron diferentes dosis de aceite de semillas de Huayllabambana y zapallo, según el ciclo estral.

Grupos	Concentraciones de Estradiol (pg/ml) en un		
	Ciclo Estral Normal		
	Día 18	Día 20	Día 21
Control	13.94 \pm 0.88 ^a	13.72 \pm 0.91 ^b	19.72 \pm 0.97 ^c
Grupo 1	14.00 \pm 1.34 ^a	15.56 \pm 0.53 ^a	25.28 \pm 0.83 ^b
Grupo 2	14.11 \pm 0.78 ^a	15.83 \pm 0.79 ^a	27.90 \pm 1.00 ^a
Valor p	0.94	0,000006	8.13E-13

^{a,b,c,d,e,f,g} Medias con letras distintas en una misma columna presentan diferencias altamente significativas (**p<0.01), según la prueba de Tukey.

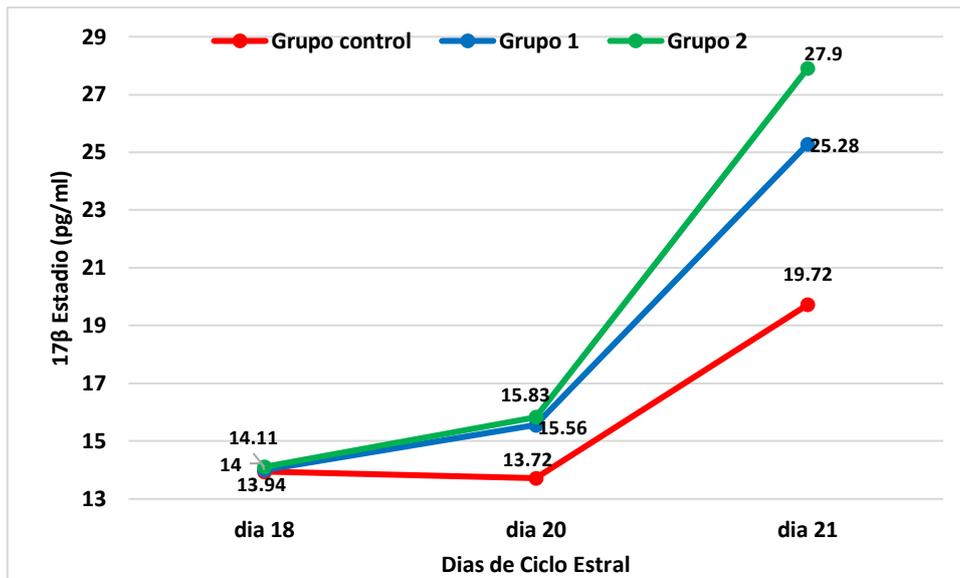


Figura 18. Concentraciones de Estradiol (pg/ml) en vacas Holstein que recibieron diferentes dosis de aceite de semillas de Huayllabambana y zapallo, según el ciclo estral

En el presente estudio se observó que el grupo 2 donde se le administró de forma parenteral (Intramuscular) las vacas a una dosis de 2 ml / 100 Kg P.V. de aceite de semillas de semillas de Huayllabambana (*Plukenetia huayllabambana*) y Zapallo (*Cucurbita maxima*), aumentaron sus niveles de estradiol durante los días 18, 20 y 21 del ciclo estral, y además se encontró que en el día 21 del ciclo estral concentraciones altas de Estradiol (pg/ml) en el grupo 2, con diferencia altamente significativa al ser comparados con el grupo control (G0) y grupo 1 (1 ml / 100 Kg P.V. de aceite de semillas de semillas de Huayllabambana y Zapallo), descritos en la tabla 10 y representado en la figura 18.

Los resultados favorables obtenidas en este estudio se atribuyen al uso del aceite de Semilla de Huayllabambana y zapallo, ricos en ácidos grasos poliinsaturados omega-3 y 6, ya que influyen en diversos factores relacionados con la síntesis y el metabolismo de hormonas reproductivas clave como la progesterona (P4) y el estradiol (E2). Se ha observado que dietas con alto contenido de omega 3 (n-3) o su administración en dosis

elevadas, se relacionan con niveles elevados de colesterol en la sangre (Robinson et al., 2002; citado. por Gulliver *et al.*, 2012), impulsando la producción de hormonas esteroides, ya que el colesterol actúa como un precursor tanto para la progesterona (P4) como para el estradiol (E2). (Staples et al., 1998). No obstante, la relación entre los omega-3 y la producción y metabolismo de hormonas esteroides puede volverse aún más compleja debido a la retroalimentación negativa, debido a que el estradiol (E2) puede disminuir la actividad de la $\Delta 6$ -desaturasa, lo que a su vez reduce la disponibilidad de sustratos de cadena n-3 para la síntesis de eicosanoides de la serie-3. (González et al., 1986, citado por Gulliver *et al.*, 2012).

Tabla 10. Concentraciones de Progesterona y Estradiol pos inseminación artificial en vacas Holstein que recibieron diferentes dosis de aceite de semillas de Huayllabambana y zapallo

Grupos	Días PosInseminación					
	Día 12		Día 17		Día 25	
	Progesterona	Estradiol	Progesterona	Estradiol	Progesterona	Estradiol
Control	3.64±0.37b	3.26±0.31b	4.73±0.55b	3.09±0.28a	3.59±1.09b	2.90±0.23a
Grupo 1	5.73±0.56a	3.57±0.10a	6.1±1.51a	3.23±0.23a	7.42±0.59a	2.69±0.31ab
Grupo 2	6.08±0.39a	3.63±0.22a	6.66±1.13a	3.32±0.16a	7.79±1.03a	2.46±0.49b
Valor p	3.72E-07	0,003855	0,006395	0.14	9.75E-06	0.048

^{a,b,c,d,e,f,g} Medias con letras distintas en una misma columna presentan diferencias altamente significativas (**p<0.01), según la prueba de Tukey.

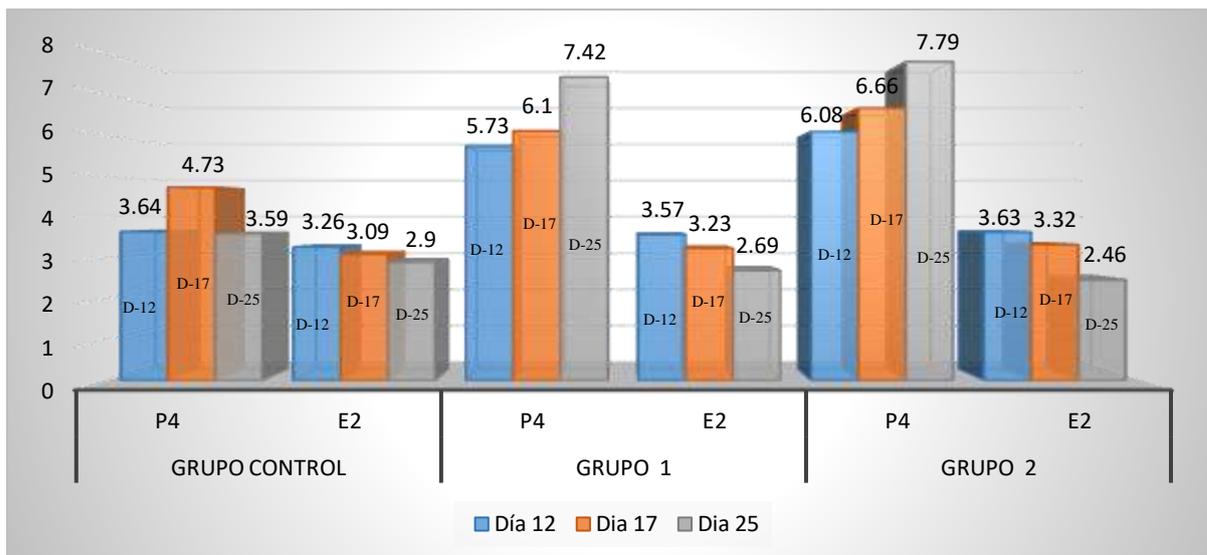


Figura 19. Comportamiento de las concentraciones de Progesterona y Estradiol pos inseminación artificial en vacas Holstein que recibieron diferentes dosis de aceite de semillas de Huayllabambana y zapallo.

Se estableció que las concentraciones de progesterona iguales o inferiores a 0.5 ng/mL en el momento de la inseminación corresponden a niveles basales típicos del estro, mientras que concentraciones superiores a 0.5 ng/mL indican la presencia de actividad lútea, es decir, niveles suprabasales (Starbuck *et al.*, 2006). Tal es así que en el presente estudio que en el día 21 del ciclo estral se ha encontrado concentraciones de progesterona que oscilan entre 0.14 a 0.27 ng/mL (Tabla 9), por debajo de los 0.5 ng/mL lo cual es un indicativo para el momento de la inseminación.

En bovinos, aproximadamente el 80 al 90% de los ovocitos son fertilizados, pero una gran parte de los embriones mueren antes de los 16-17 días posteriores a la inseminación (Diskin, Parr y Morris, 2012). Un error humano es la principal causa de inseminar vacas con concentraciones de progesterona suprabasales. Algunas vacas pueden haber presentado estos niveles elevados de progesterona debido a una luteólisis incompleta (Bage, 2003). Aunque estos niveles de progesterona podrían ser suficientes para que se manifieste el estro, su concentración elevada puede interferir con la

sincronización de los procesos endocrinos periovulatorios, lo que afectaría tanto la fertilización como el desarrollo temprano del embrión (Roelofs *et al.*, 2010).

Tal es así que procedió a medir la concentración de progesterona pos inseminación en los días 12, 17 y 25, observando un aumento de progesterona desde el día 12 hasta el día 25 alcanzando concentraciones de 7.42 ± 0.59 ng/mL y 7.79 ± 1.03 ng/mL de progesterona en el Grupo 1 y 2 respectivamente, descritos en la tabla 11 y representado en la figura 19. Entendiendo que la actividad luteal en hembras bovinas se confirma cuando dos o más muestras consecutivas de plasma presentan concentraciones de progesterona (P4) superiores a 1 ng/mL. El fin de la actividad luteal se determina cuando la primera muestra muestra una concentración por debajo de este umbral (Zarazaga L. *et al.*, 2011). Durante la gestación en hembras de rumiantes domésticos, se observa que la concentración de P4 se mantiene en un rango de aproximadamente 5 a 15 ng/mL (Menchaca and Rubianes, 2001).

Por otro lado se debe de entender que la mayoría de las muertes embrionarias ocurren durante los primeros 16 días posinseminación de forma que las vacas regresan a estro en un tiempo equivalente a un ciclo estral normal (Thatcher *et al.*, 1994). observando que al haber menos progesterona el desarrollo del embrión es más lento y tendría menor capacidad para producir interferón-t (Kerbler *et al.*, 1997). En la presente investigación en el día 17 las concentración de P4 llegan a estar entre 6.1 ng/mL y 6.66 6.1 ng/mL en los grupos 1 y 2 los cuales fueron superiores ($p < 0.01$) a los valores encontrados con el grupo control (Tabla 11), además estos valores se encuentran entre 5 y 15 ng/mL, tal como recomienda Menchaca y Rubianes (2001) para el mantenimiento de la preñez.

Estudios similares a lo reportado por Mateos *et al.*, (2002), quien al evaluar las concentraciones de progesterona en los días 12, 13 o 14 posinseminación, determino

concentraciones de progesterona ($5,9\pm 0,23$ ng/ml) y estradiol ($3,3\pm 0,32$ pg/ml). En otra investigación Pinto *et al.* (2009), En vacas gestantes, los niveles de progesterona en el plasma periférico aumentan con el desarrollo del cuerpo lúteo, alcanzando concentraciones de entre 5 y 10 ng/ml entre los días 15 y 20 después de la concepción. Se cree que estos niveles se mantienen estables hasta poco antes del parto. Según Holý (1987), estas variaciones podrían deberse a que, durante la gestación, otros órganos como la placenta y las glándulas suprarrenales también producen progesterona. Por lo tanto, a medida que avanza la gestación, los niveles de P4 en el plasma periférico tienden a aumentar, mientras que en la vena ovárica disminuyen. En un estudio realizado por Pritchard, Schrick e Inskeep (1994), se observó que las vacas con concentraciones bajas de estradiol (hasta 2.75 pg/ml) tuvieron una tasa de concepción más alta que las vacas con niveles elevados de estradiol. En el presente estudio, los niveles de estradiol fueron de 2.69 pg/ml y 2.46 pg/ml en los grupos 1 y 2, respectivamente (ver Tabla 11), y estos grupos mostraron altas tasas de concepción, con porcentajes del 44.44% y 88.89%, respectivamente (Tabla 11).

Tabla 11. Tasa de concepción en vacas Holstein que recibieron diferentes dosis de aceite de semillas de Huayllabambana y zapallo

Indicadores	Control	Grupo 1	Grupo 2	Valor p
Vacas Inseminadas	9	9	9	
Vacas Preñadas	3	4	8	0.04
Tasa de Concepción (%)	33.33	44.44	88.89	

Valor de p presento diferencias significativas ($p < 0.05$), según la prueba de Chi-cuadrado

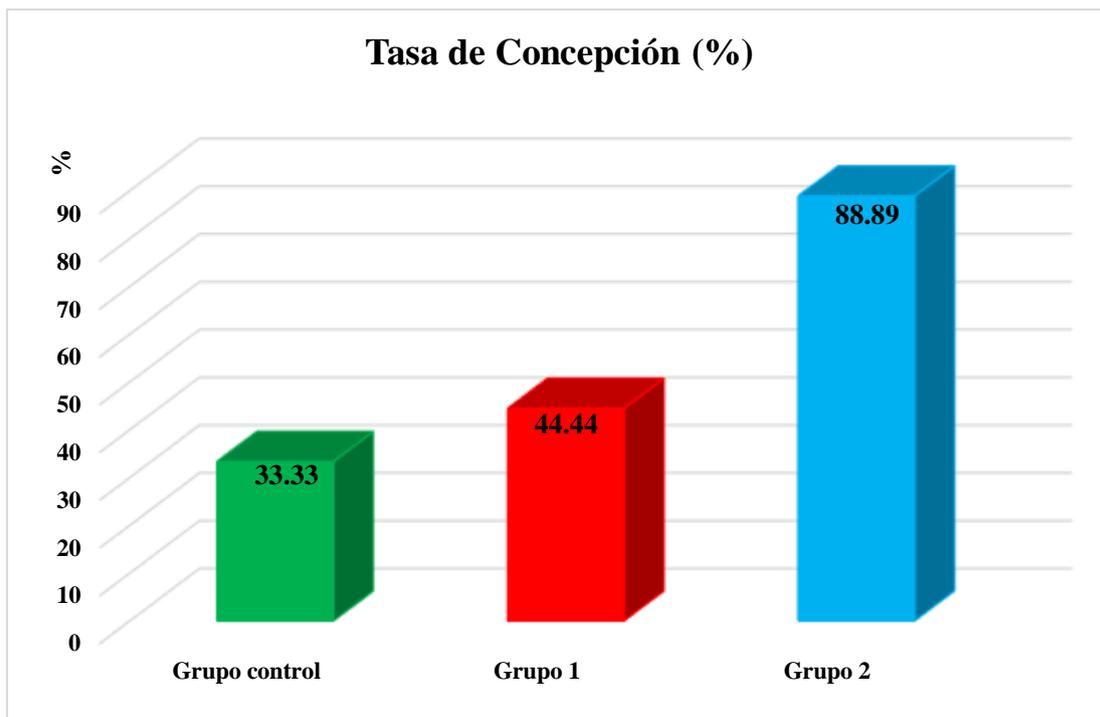


Figura 20. Tasa de concepción en vacas Holstein administradas con semillas de Huayllabamba Huayllabambana y Zapallo.

En la tabla 12 y figura 20 se observó que al utilizar ácidos grasos esenciales provenientes de semillas de Huayllabamba y Zapallo se encontró una tasa de concepción de 44.44% y 88.89 % en los grupos 1 y 2, siendo este último con mayor porcentaje ($p < 0.05$) y el que se empleó el aceite con una dosis de 2ml/100 Kg P.V.

CAPITULO IV

CONCLUSIONES

1.- Las vacas Holstein en posparto que recibieron aceite de semilla de Huayllabamba y zapallo vía intramuscular, a una dosis de 2 ml por cada 100 kg de peso vivo, se observó en un ciclo estral normal, a los días 5, 10, 15, 18 y 21, un aumento significativo ($p < 0.01$) en las concentraciones de colesterol y lipoproteínas de alta densidad (HDL), así como una reducción significativa ($p < 0.01$) en los niveles de triglicéridos y lipoproteínas de baja densidad (LDL) en comparación con el grupo control.

2.- Las vacas Holstein posparto administradas con aceite de semilla de Huayllabamba y Zapallo vía intramuscular a dosis 2 ml por cada 100 kg de peso vivo, mostraron altas concentraciones de progesterona en los días 10 y 15 de un ciclo estral normal, y de β -estradiol en el día 21, En el periodo post inseminación en los días 12, 17 y 25, se observó un incremento ($p < 0.01$) sostenido de progesterona, así mismo, se registró una alta tasa de concepción del 88.89% ($p < 0.05$).

RECOMENDACIONES

1. Sugerir la administración intramuscular de los aceites de semilla de Huayllabamba y Zapallo vía intramuscular a dosis de 2 ml por cada 100 kg de peso vivo, como parte de los programas reproductivos para mejorar los niveles de progesterona, fundamentales para el mantenimiento del ciclo reproductivo y aumentar la tasa de concepción.
2. Se sugiere realizar investigaciones adicionales relacionado a los aceites de estas semillas para profundizar en sus efectos a largo plazo sobre la salud reproductiva y la producción lechera.

LISTA DE REFERENCIAS

- Abayasekara, D.R. and Wathes, D.C. (1999) 'Effects of altering dietary fatty acid composition on prostaglandin synthesis and fertility', *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 61(5), pp. 275–287. Available at: <https://doi.org/https://doi.org/10.1054/plef.1999.0101>.
- Acton, S. *et al.* (1996) 'Identification of Scavenger Receptor SR-BI as a High Density Lipoprotein', *Science*, 271(5248), pp. 518–520. Available at: <http://www.jstor.org/stable/2890159>.
- Adams, G.P. *et al.* (2008) 'Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle', *Theriogenology*, 69(1), pp. 72–80. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.09.026>.
- Ambrose, D.J. *et al.* (2006) 'Lower Pregnancy Losses in Lactating Dairy Cows Fed a Diet Enriched in α -Linolenic Acid', *Journal of Dairy Science*, 89(8), pp. 3066–3074. Available at: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72581-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72581-4).
- Araujo, R.R. *et al.* (2009) 'Role of follicular estradiol-17beta in timing of luteolysis in heifers.', *Biology of reproduction*, 81(2), pp. 426–37. Available at: <https://doi.org/10.1095/biolreprod.108.073825>.
- Aroche, R. *et al.* (2011) 'Semilla de calabaza en dieta para pollos de ceba. Rev. producción. animal', *Rev. producción. animal.*, 23(2), pp. 103–108.
- Aye, T.T. *et al.* (2009) 'Selectivity in enrichment of cAMP-dependent protein kinase regulatory subunits type I and type II and their interactors using modified cAMP affinity resins.', *Molecular & cellular proteomics: MCP*, 8(5), pp. 1016–28. Available at: <https://doi.org/10.1074/mcp.M800226-MCP200>.
- Azhar, S. and Reaven, E. (2002) 'Scavenger receptor class BI and selective cholesteryl ester uptake: Partners in the regulation of steroidogenesis', *Molecular and Cellular Endocrinology*, 195(1–2), pp. 1–26. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0303-7207\(02\)00222-8](https://doi.org/10.1016/S0303-7207(02)00222-8).
- Bage, R. (2003) 'Conception Rates after AI in Swedish Red and White Dairy Heifers: Relationship with Progesterone Concentrations at AI', *Reproduction in Domestic*

Animals, 38(3), pp. 199–203. Available at: <https://doi.org/10.1046/j.1439-0531.2003.00426.x>.

Båge, R. *et al.* (2002) ‘Repeat breeding in dairy heifers: Follicular dynamics and estrous cycle characteristics in relation to sexual hormone patterns’, *Theriogenology*, 57(9), pp. 2257–2269. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)00840-3](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)00840-3).

Ballard, M. and Byrd, A.T. (2018) ‘Evaluation of a Rumen Protected Omega 3 Supplement for Reproduction in Dairy Cows as Determined in Three Large Herd Field Trials’, *Open Journal of Animal Sciences*, 08(03), pp. 346–355. Available at: <https://doi.org/10.4236/ojas.2018.83026>.

Basoglu, A., Sevinc, M. and Gokcen, M. (1998) ‘Peri and postparturient concentrations of lipid lipoprotein insulin and glucose in normal dairy cows’, *Turk Vet ve Hay Derg*, 22, pp. 141–144. Available at: <https://doi.org/10.3906/vet-5-96103>.

Bauchart, D. (1993) ‘Lipid Absorption and Transport in Ruminants’, *Journal of Dairy Science*, 76(12), pp. 3864–3881. Available at: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77728-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77728-0).

Bergfeld, E.G. *et al.* (1996) ‘Changing dose of progesterone results in sudden changes in frequency of luteinizing hormone pulses and secretion of 17 beta-estradiol in bovine females.’, *Biology of reproduction*, 54(3), pp. 546–553. Available at: <https://doi.org/10.1095/biolreprod54.3.546>.

Bilby, T.R. *et al.* (2006) ‘Pregnancy, Bovine Somatotropin, and Dietary n-3 Fatty Acids in Lactating Dairy Cows: I. Ovarian, Conceptus, and Growth Hormone–Insulin-Like Growth Factor System Responses’, *Journal of Dairy Science*, 89(9), pp. 3360–3374. Available at: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72373-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72373-6).

Bloeck, M. *et al.* (2006) ‘Componentes nutricionales de cuatro variedades De Semillas De Cucurbita Spp Cultivadas En La Region Centro-Chaquena, Argentina’, *II Jornada de Investigacion en Ingenieria del NEA y Paises Liimitrofes* [Preprint], (1992).

Bocanegra Reyes, M.L. (2014) *Efecto del aloe vera ‘Sabila’ y micro minerales sobre el periodo de involucion uterina, reinicio de la actividad ovarica post parto y parametros reproductivos, en vacas Holstein, en la region La Libertad.*

Universidad Nacional de Trujillo. Available at:
<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/>.

Boland, M.P., Lonergan, P. and Callaghan, O. (2001) 'Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, and oocyte and embryo development', *Theriogenology*, 55(01), pp. 1323–1340.

Boland, M.P. and Lonergan, P. (2003) 'Effects of Nutrition on Fertility in Dairy Cows', *Advances in Dairy Technology*, 15, p. 19. Available at:
https://wcds.ualberta.ca/wcds/wp-content/uploads/sites/57/wcds_archive/Archive/2003/Manuscripts/Chapter_02_Boland.pdf (Accessed: 31 May 2022).

Boletín estadístico de producción, agrícola, pecuaria y avícola. Abril 2016 (2016). Available at:
<http://www.minagri.gob.pe/portal/download/pdf/herramientas/boletines/produccion-agricola-pecuaria-avicola/2016/boletin-produccion-comercializacion-avicola-abril2016.pdf>.

Bonafos, L.D., Kot, K. and Ginther, O.J. (1995) 'Physical characteristics of the uterus during the bovine estrous cycle and early pregnancy', *Theriogenology*, 43(4), pp. 713–721. Available at: [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(95\)00014-Y](https://doi.org/10.1016/0093-691X(95)00014-Y).

Bose, H.S. *et al.* (1999) 'The active form of the steroidogenic acute regulatory protein, StAR, appears to be a molten globule', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(13), pp. 7250–7255. Available at:
<https://doi.org/10.1073/pnas.96.13.7250>.

Burke, J.M. *et al.* (1997) 'Effect of Ruminant Grade Menhaden Fish Meal on Reproductive and Productive Performance of Lactating Dairy Cows', *J. Dairy Sci.*, 80(12), pp. 3386–3398. Available at: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)76314-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76314-8).

Bussmann, R.W., Téllez, C. and Glenn, A. (2009) 'Plukenetia huayllabambana sp. nov. (Euphorbiaceae) from the upper Amazon of Peru.', *Nordic Journal of Botany*, 27(February), pp. 313–315. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.2009.00460.x>.

- Caffrey, J.L., Fletcher, P.W. and Diekman, M.A. (1979) 'The activity of ovine luteal cholesterol esterase during several experimental conditions', *Biology of Reproduction*, 21(3), pp. 601–608. Available at: <https://doi.org/10.1095/biolreprod21.3.601>.
- Caldari-Torres, C. *et al.* (2006) 'Differential effects of n-3 and n-6 fatty acids on prostaglandin F2alpha production by bovine endometrial cells.', *Journal of dairy science*, 89(3), pp. 971–977. Available at: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72162-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72162-2).
- Cheng, Z. *et al.* (2005) 'The effect of a diet supplemented with the n-6 polyunsaturated fatty acid linoleic acid on prostaglandin production in early- and late-pregnant ewes', *Journal of Endocrinology*, 184(1), pp. 165–178. Available at: <https://doi.org/10.1677/joe.1.05910>.
- Childs, S. *et al.* (2008) 'Effect of dietary enrichment with either n-3 or n-6 fatty acids on systemic metabolite and hormone concentration and ovarian function in heifers.', *Animal*, 6, pp. 883–893. Available at: <https://doi.org/10.1017/S1751731108002115>.
- Chin, E.C. and Abayasekara, D.R.E. (2004) 'Progesterone secretion by luteinizing human granulosa cells: A possible cAMP-dependent but PKA-independent mechanism involved in its regulation', *Journal of Endocrinology*, 183(1), pp. 51–60. Available at: <https://doi.org/10.1677/joe.1.05550>.
- Chiroque, G., Arevalo, K. and Vasquez, G. (2016) *Linaza (Linum usitatissimum) y semilla de zapallo (Cucurbita maxima) para enriquecer con omega - 3 y omega – 6 la carne de gallina de guinea (Numida meleagris)*. Lambayeque, 2015. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.
- Climate-data.org (2016) *Clima de la ciudad de Chiclayo, Clima: Chiclayo*. Available at: <https://es.climate-data.org/location/3932/>.
- Contreras, P.A. (1998) 'Síndrome de movilización grasa en vacas lecheras al inicio de la lactancia y sus efectos en salud y producción de los rebaños. Valdivia-Chile.', *Arch Med Vet*, 30(2), pp. 17–27.

- Coppo, J.A. (2003) 'Efecto del destete precoz sobre lípidos y lipoproteínas séricas en terneros cruza Cebú.', *Analecta Veterinaria*, 23, pp. 5–12.
- Coyne, G.S. *et al.* (2008) 'Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids alter the expression of genes involved in prostaglandin biosynthesis in the bovine uterus', *Theriogenology*, 70(5), pp. 772–782. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.05.048>.
- Dewhurst, R.J. *et al.* (2003) 'Comparison of Grass and Legume Silages for Milk Production. 2. In Vivo and In Sacco Evaluations of Rumen Function', *Journal of Dairy Science*, 86(8), pp. 2612–2621. Available at: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73856-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73856-9).
- Díaz, T. *et al.* (2009) 'El efecto de las grasas omega 3 y omega 6 sobre la reproducción de vacas de primera lactancia pastoreando en los llanos venezolanos', in *III Simposium sobre Recursos y Tecnologías Alimentarias Apropriadas para la Producción Bovina a Pastoreo en Condiciones*. San Cristob: Pasteurizadora Táchira C.A. 2009, p. 17. Available at: nutribasicos@nutribasicos.com.ve.
- Dirandeh, E. *et al.* (2013) 'Plasma concentrations of PGFM and uterine and ovarian responses in early lactation dairy cows fed omega-3 and omega-6 fatty acids', *Theriogenology*, 80, pp. 131–137. Available at: <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.03.012>.
- Diskin, M.G., Parr, M.H. and Morris, D.G. (2012) 'Embryo death in cattle: an update', *Reproduction, Fertility and Development*, 24(1), p. 244. Available at: <https://doi.org/10.1071/RD11914>.
- Domínguez, M.M. (1995) 'Effects of body condition, reproductive status and breed on follicular population and oocyte quality in cows', *Theriogenology*, 43(8), pp. 1405–1418. Available at: [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(95\)00126-S](https://doi.org/10.1016/0093-691X(95)00126-S).
- Doyle, D.N. *et al.* (2019) 'Effect of dietary n-3 polyunsaturated fatty acid supplementation and post-insemination plane of nutrition on systemic concentrations of metabolic analytes, progesterone, hepatic gene expression and embryo development and survival in beef heifers', *Theriogenology*, 127, pp. 102–113. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.12.037>.

- El-Shahat, K.H. and Abo-El maaty, A.M. (2010) ‘The effect of dietary supplementation with calcium salts of long chain fatty acids and/or l-carnitine on ovarian activity of Rahmani ewes’, *Animal Reproduction Science*, 117(1–2), pp. 78–82. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2009.04.005>.
- Elis, S.. *et al.* (2016) ‘Effect of a long chain n-3 PUFA enriched diet on production and reproduction variables in Holstein dairy cows’, *Animal Reproduction Science*, 164, pp. 121–132. Available at: <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.11.020>.
- Emken, E.A., Adlof, R.O. and Gulley, R.M. (1994) ‘Dietary linoleic acid influences desaturation and acylation of deuterium-labeled linoleic and linolenic acids in young adult males’, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)/Lipids and Lipid Metabolism*, 1213(3), pp. 277–288. Available at: [https://doi.org/10.1016/0005-2760\(94\)00054-9](https://doi.org/10.1016/0005-2760(94)00054-9).
- Endo, N. *et al.* (2012) ‘Comparison between lactating and non-lactating dairy cows on follicular growth and corpus luteum development, and endocrine patterns of ovarian steroids and luteinizing hormone in the estrous cycles’, *Animal Reproduction Science*, 134(3–4), pp. 112–118. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.08.018>.
- Evans, R.W. *et al.* (1980) ‘Progesterone regulation of estrogen receptor in the hamster uterus during the estrous cycle’, *Endocrinology*, 107(2), pp. 383–390. Available at: <https://doi.org/10.1210/endo-107-2-383>.
- Fernandez, D.. and Mangel, T. (1983) ‘Esteroidogenesis’, *Acta médica costarricense*, 26, pp. 144–149.
- Findlay, J.K. *et al.* (2002) ‘Recruitment and development of the follicle; the roles of the transforming growth factor- β superfamily’, *Molecular and Cellular Endocrinology*, 191(1), pp. 35–43. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0303-7207\(02\)00053-9](https://doi.org/10.1016/S0303-7207(02)00053-9).
- Forde, N.. *et al.* (2011) ‘Oestrous cycles in *Bos taurus* cattle’, *Animal Reproduction Science*, 124(3–4), pp. 163–169. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.08.025>.

- Forde, N. *et al.* (2009) 'Progesterone-Regulated Changes in Endometrial Gene Expression Contribute to Advanced Conceptus Development in Cattle', *Biology of Reproduction*, 81(4), pp. 784–794. Available at: <https://doi.org/10.1095/biolreprod.108.074336>.
- Fortune, J.E. *et al.* (2009) 'The periovulatory period in cattle: progesterone, prostaglandins, oxytocin and ADAMTS proteases.', *Animal reproduction / Colegio Brasileiro de Reproducao Animal*, 6(1), pp. 60–71. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2008.05.010>.
- Fraser, H.M. and Wulff, C. (2003) 'Angiogenesis in the corpus luteum', *Reproductive Biology and Endocrinology*, 12(1), pp. 1–8. Available at: <https://doi.org/10.1186/1477-7827-1-88>.
- Galbreath, C.W. *et al.* (2008) 'Effect of feeding flax or linseed meal on progesterone clearance rate in ovariectomized ewes', *Domestic Animal Endocrinology*, 35(2), pp. 164–169. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2008.05.002>.
- Gallegos de la Hoya, M.P. and Minjares Flores, E.A. (2010) *Causas de infertilidad en bovinos lecheros y enfermedades metabólicas*, *Engormix.com*. Available at: <https://www.engormix.com/ganaderia-leche/articulos/causas-infertilidad-bovinos-lecheros-t28571.htm>.
- Galvis, R., Agudelo, D. and Saffon, A. (2007) 'Condición corporal, perfil de lipoproteínas y actividad ovárica en vacas Holstein en lactancia temprana', *Italian Journal of Animal Science*, 20(SUPPL. 2), pp. 130–142. Available at: <https://doi.org/10.4081/ijas.2007.s2.130>.
- Ginther, O.J. *et al.* (2010) 'Intrapulse temporality between pulses of a metabolite of prostaglandin F2 α and circulating concentrations of progesterone before, during, and after spontaneous luteolysis in heifers', *Theriogenology*, 74(7), pp. 1179–1186. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.05.018>.
- Ginther, O.J. *et al.* (2013) 'Follicular-phase concentrations of progesterone, estradiol-17 β , LH, FSH, and a PGF2 α metabolite and daily clustering of prolactin pulses, based on hourly blood sampling and hourly detection of ovulation in heifers', *Theriogenology*, 79(6), pp. 918–928. Available at:

<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.12.015>.

Goldenberg, R.L., Vaitukaitis, J.L. and Ross, G.T. (1972) 'Estrogen and follicle stimulating hormone interactions on follicle growth in rats', *Endocrinology*, 90(6), pp. 1492–1498. Available at: <https://doi.org/10.1210/endo-90-6-1492>.

Gómez-Chang, E., Larrea, F. and Martínez-Montes, F. (2012) 'Vías de señalización asociadas a la esteroidogénesis.', *Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 15(1), pp. 24–36.

Google maps (2018) 'Mapa de la provincia de Chiclayo, región Lambayeque'. Available at: <https://www.google.com.pe/maps/@-6.7942043,-79.8583287,24270m/data=!3m1!1e3> (Accessed: 13 April 2018).

Gore-Langton, R.E. and Armstrong, D. (1994) 'No TitleFollicular steroidogenesis and its control', in E. Knobil and J. Neill (eds) *The Physiology of Reproduction*. Elsevier, New York, pp. 331–385.

Gorriti, A. *et al.* (2010) 'Toxicidad oral a 60 días del aceite de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) y linaza (*Linum usitatissimum* L.) y determinación de la dosis letal 50 en roedores', *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 27(3), pp. 352–360. Available at: <https://doi.org/10.1590/S1726-46342010000300007>.

Graham, J.D. and Clarke, C.L. (1997) 'Physiological action of progesterone in target tissues', *Endocrine Reviews*, 18(4), pp. 502–519. Available at: <https://doi.org/10.1210/er.18.4.502>.

Granot, Z. *et al.* (2003) 'Proteolysis of normal and mutated steroidogenic acute regulatory proteins in the mitochondria: the fate of unwanted proteins.', *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)*, 17(12), pp. 2461–2476. Available at: <https://doi.org/10.1210/me.2003-0074>.

Grummer, R.R. and Carroll, D.J. (1991) 'EFFECTS OF DIETARY FAT ON METABOLIC DISORDERS AND REPRODUCTIVE PERFORMANCE OF DAIRY CATTLE ', *Journal animal science*, 69, pp. 383&3852. Available at: <https://doi.org/doi:10.2527/1991.6993838x>.

- Grummer, R.R. and Carroll, D.J. (1988) 'A review of lipoprotein cholesterol metabolism: importance to ovarian function.', *Journal of animal science*, 66(12), pp. 3160–3173. Available at: <https://doi.org/10.2527/jas1988.66123160x>.
- Guedón, L. *et al.* (1999) 'Serum cholesterol and triglycerides in postpartum beef cow and the relationship to the resumption of ovulation.', *Theriogenology*, 51, pp. 1405–1415.
- Guédon, L. *et al.* (1999) 'Serum cholesterol and triglycerides in postpartum beef cows and their relationship to the resumption of ovulation', *Theriogenology*, 51(7), pp. 1405–1415. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(99\)00083-7](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00083-7).
- Gulliver, C.E. *et al.* (2012) 'The role of omega-3 polyunsaturated fatty acids in reproduction of sheep and cattle', *Animal Reproduction Science*, 131(1–2), pp. 9–22. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.02.002>.
- Gwynne, J.T. and Strauss, J.F. (1982) 'The role of lipoproteins in steroidogenesis and cholesterol metabolism in steroidogenic glands', *Endocrine Reviews*, 3(3), pp. 299–329. Available at: <https://doi.org/10.1210/edrv-3-3-299>.
- Hamamoto, I. and Hiwatashi, A. (1986) 'Zonal Distribution of Cytochromes P-450 and Related Enzymes of Bovine Adrenal Cortex — Quantitative Assay of Concentrations and Total Contents', *J. Biochem*, 1748, pp. 1743–1748.
- Hansel, W. and Convey, E.M. (1983) 'Physiology of the estrous cycle', *Journal of animal science*, 57, pp. 404–424. Available at: https://doi.org/10.2527/animalsci1983.57Supplement_2404x.
- Hanukoglu, I. (1992) 'Steroidogenic enzymes: Structure, function, and role in regulation of steroid hormone biosynthesis', *Steroid Biochem. Molec. Biol*, 43(8), pp. 779–804. Available at: [https://doi.org/10.1016/0960-0760\(92\)90307-5](https://doi.org/10.1016/0960-0760(92)90307-5).
- Havelock, J.C., Rainey, W.E. and Carr, B.R. (2004) 'Ovarian granulosa cell lines', *Molecular and Cellular Endocrinology*, 228(1–2), pp. 67–78. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.mce.2004.04.018>.
- Henao, G. *et al.* (2010) 'Relación entre pérdida de peso, perfil lipídico y concentraciones plasmáticas de leptina en vacas cebú primerizas.', *Rev Fac Nal Agr Medellín*, 63,

pp. 5595–5605.

- Hernández, R.. and Díaz, T. (2011) ‘Las Grasas Sobrepasantes Y Su Efecto Sobre La Actividad Productiva Y Reproductiva En Rumiantes’, *Nutribasicos*, 33, pp. 1–17.
- Hinckley, T. *et al.* (1996) ‘Long Chain Polyunsaturated Fatty Acids and Bovine Luteal Cell Function’, *Biology of reproduction*, 55, pp. 445–449. Available at: <http://medind.nic.in/ibv/t09/i9/ibvt09i9p785.pdf>.
- Homer, E.M. *et al.* (2013) ‘Technical note: A novel approach to the detection of estrus in dairy cows using ultra-wideband technology’, *Journal of Dairy Science*, 96(10), pp. 6529–6534. Available at: <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6747>.
- Horrobin, D.F. and Bennett, C.N. (1999) ‘Depression and bipolar disorder: relationships to impaired fatty acid and phospholipid metabolism and to diabetes, cardiovascular disease, immunological abnormalities, cancer, ageing and osteoporosis Possible candidate genes’, *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids (PLEFA)*, 60(4), pp. 217–234. Available at: <https://doi.org/10.1054/plef.1999.0037>.
- Hoyer, P.B., Fitz, T.A. and Niswender, G. (1984) ‘Hormone-independent activation of adenylate cyclase in large steroidogenic ovine luteal cells does not result in increased progesterone secretion’, *Endocrinology*, 114(2), pp. 604–608. Available at: <https://doi.org/10.1210/endo-114-2-604>.
- Hu, J.. *et al.* (2010) ‘Cellular cholesterol delivery, intracellular processing and utilization for biosynthesis of steroid hormones.’, *Nutrition & metabolism*, 7(1), p. 47. Available at: <https://doi.org/10.1186/1743-7075-7-47>.
- Huamán, J. *et al.* (2008) ‘Efecto de la Plukenetia volubilis Linneo (Sacha inchi) en la trigliceridemia posprandial’, *An Fac. med.*, 69(4), pp. 263–6.
- Hwang, J. and Menon, K.M. (1983) ‘Characterization of low density and high density lipoprotein receptors in the rat corpus luteum and regulation by gonadotropin.’, *The Journal of biological chemistry*, 258(13), pp. 8020–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6305966>.

- Jahani-Moghadam, M., Mahjoubi, E. and Dirandeh, E. (2015) 'Effect of linseed feeding on blood metabolites, incidence of cystic follicles, and productive and reproductive performance in fresh Holstein dairy cows', *Journal of dairy Science*, 98, pp. 1–8. Available at: <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.3168/jds.2014-8789>.
- Jenkins, T.C. (1993) 'Lipid Metabolism In the Rumen', *Journal of Dairy Science*, 76(12), pp. 3851–3863. Available at: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77727-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77727-9).
- Johnson, W.J., Phillips, M.C. and Rothblat, G.H. (1997) 'Lipoproteins and cellular cholesterol homeostasis', in R. Bittman (ed.) *Cholesterol: Its functions and metabolism in biology and medicine*. NeW York: Plenum press, pp. 235–276.
- Jones, L.S., Ottobre, J.S. and Pate, J.L. (1992) 'Progesterone regulation of luteinizing hormone receptors on cultured bovine luteal cells', *Molecular and Cellular Endocrinology*, 85(1–2), pp. 33–39. Available at: [https://doi.org/10.1016/0303-7207\(92\)90122-M](https://doi.org/10.1016/0303-7207(92)90122-M).
- Kaneko, J.J. (1989) *Clinical biochemistry of domestic animal*. 4 th ed. San Diego: Academic Press.
- Kemp, B. *et al.* (1998) 'Influence of linoleic/linolenic acid ratio in the diet of periparturient cattle on plasma concentrations of PGF₂ metabolite and placental expulsion rate.', *Theriogenology*, (98), pp. 571–580.
- Kerbler, T.L. *et al.* (1997) 'Relationship between maternal plasma progesterone concentration and interferon-tau synthesis by the conceptus in cattle', *Theriogenology*, 47(3), pp. 703–714. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(97\)00028-9](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(97)00028-9).
- Knight, P.G. (1996) 'Roles of inhibins, activins, and follistatin in the female reproductive system.', *Frontiers in neuroendocrinology*, 17(4), pp. 476–509. Available at: <https://doi.org/10.1006/frne.1996.0013>.
- Knight, P.G. and Glister, C. (2003) '2003 knight y Glister Local roles of TGF- β superfamily members in the control of ovarian follicle development.pdf', *Animal Reproduction Science*, 78, pp. 165–183. Available at: [https://doi.org/doi.org/10.1016/S0378-4320\(03\)00089-7](https://doi.org/doi.org/10.1016/S0378-4320(03)00089-7).

- Kovanen, P. *et al.* (1979) 'Low density lipoprotein receptors in bovine adrenal cortex. I. Receptor- mediated uptake of low density lipoprotein and utilization of its cholesterol for steroid synthesis in cultured adrenocortical cells', *Endocrinology*, 104(3), pp. 599–609. Available at: <https://doi.org/doi.org/10.1210/endo-104-3-599>.
- Kovanen, P.T. *et al.* (1979) 'Low Density Lipoprotein Receptors in Bovine Adrenal', *Endocrinology*, 104(3).
- Krisans, S. (1966) 'Cell Compartmentalization of Cholesterol Biosynthesis', *Annals New York academy of sciences*, 1, pp. 142–163. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1996.tb18614.x>.
- Kumar, S. *et al.* (2022) 'Effect of Dietary Enrichment with Omega 3 and 6 Fatty Acids on Blood Metabolites, Hormone Concentration and Ovarian Function in Sahiwal Heifers', *Indian Journal of Animal Research*, 56(9), pp. 1084–1089. Available at: <https://doi.org/10.18805/IJAR.B-3939>.
- Lammoglia, M.A. *et al.* (1997) 'Effects of dietary fat on follicular development and circulating concentrations of lipids, insulin, progesterone, estradiol-17 beta, 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F(2 alpha), and growth hormone in estrous cyclic Brahman cows.', *Journal of Animal Science*, 75(6), p. 1591. Available at: <https://doi.org/10.2527/1997.7561591x>.
- Lauber, M. and Muller, J. (1989) 'Purification and Characterization of Two Distinct Forms of Rat Adrenal Cytochrome P450 „@: Functional and Structural Aspects ' matic activities , leading to the formation of Whydroxycorticosterone are difficult to reconcile with the assump- changes in th', *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 274(1), pp. 109–119.
- Lizarazu, S.F., Rivera, R.G. and Torres, E.P. (2002) 'Presencia del genotipo D/D del gen de enzima convertidora de angiotensina y del genotipo 235T del gen de angiotensinogeno como factores de riesgo para sumir un evento coronario agudo.', *Rev. Per. de Cardiol*, 28, p. 2.
- Lopez, H., Satter, L.D. and Wiltbank, M.C. (2004) 'Relationship between level of milk production and estrous behavior of lactating dairy cows', *Animal Reproduction Science*, 81(3–4), pp. 209–223. Available at:

<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2003.10.009>.

MacLaren, L.A. *et al.* (2006) 'Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) expression in cultured bovine endometrial cells and response to omega-3 fatty acid, growth hormone and agonist stimulation in relation to series 2 prostaglandin production', *Domestic Animal Endocrinology*, 30(3), pp. 155–169. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2005.07.003>.

Maloberti, P. *et al.* (2005) 'Silencing the expression of mitochondrial acyl-CoA thioesterase I and acyl-CoA synthetase 4 inhibits hormone-induced steroidogenesis', *FEBS Journal*, 272(7), pp. 1804–1814. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2005.04616.x>.

Marsh, J.M. (1970) 'The stimulatory effect of prostaglandin E2 on adenylyl cyclase in the bovine corpus luteum.', *FEBS Lett.*, 7(3), pp. 283–286. Available at: [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(70\)80182-X](https://doi.org/10.1016/0014-5793(70)80182-X).

Martal, J. and Cedard, L. (1993) 'Endocrine functions of the placenta', in Thibault, M.C. Levasseur, and R.H.F. Hunter (eds) *Reproduction in mammals and man*. Paris: Ellipses.

Martínez, D. (2012) *Suplementación de las raciones para vacas lecheras de alta producción con aceites de origen vegetal*. Universidad Complutense de Madrid.

Martinez, Y. *et al.* (2007) 'Potencialidades de la semilla de calabaza como alimento para monogástricos', *Asociación cubana de producción animal (ACPA)*, 1, p. 20.

Martínez, Y. *et al.* (2010) 'Utilización de la semilla de calabaza (Cucurbita moschata) en dietas para pollos de ceba', *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 44(4), pp. 393–398. Available at: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193017783011>.

Martins, J.P.N., Policelli, R.K. and Pursley, J.R. (2011) 'Luteolytic effects of cloprostenol sodium in lactating dairy cows treated with G6G/Ovsynch', *Journal of Dairy Science*, 94(6), pp. 2806–2814. Available at: <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.3168/jds.2010-3650>.

Matamoros, R., Gomez, C. and Andaur, M. (2002) 'Hormonas de utilidad diagnóstica en Medicina Veterinaria Hormones of diagnostic value in Veterinary Medicine',

Arch. Med. Vet., 34(2), pp. 167–182. Available at: <https://doi.org/10.4067/S0301-732X2002000200003>.

Mateos, R.A. *et al.* (2002) ‘Tamaño folicular, progesterona y estradiol plasmáticos en los días 12-14 posinseminación y porcentaje de concepción de vacas Holstein’, *Rev. Arch. Zootec.*, 51, pp. 327-334.

Mattos, R., Staples, C.R. and Thatcher, W.W. (2000) ‘Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminants’, *Reviews of Reproduction*, 5, pp. 38–45. Available at: [https://doi.org/doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77727-9](https://doi.org/doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77727-9).

Mattos, R. *et al.* (2003) ‘Polyunsaturated fatty acids and bovine interferon-tau modify phorbol ester-induced secretion of prostaglandin F₂ alpha and expression of prostaglandin endoperoxide synthase-2 and phospholipase-A₂ in bovine endometrial cells’, *Biol Reprod.*, 69(3), pp. 780–787. Available at: <https://doi.org/10.1095/biolreprod.102.015057>.

Mattos, R. *et al.* (2004) ‘The Effects of Feeding Fish Oil on Uterine Secretion of PGF₂ α , Milk Composition, and Metabolic Status of Periparturient Holstein Cows’, *Journal of Dairy Science*, 87(4), pp. 921–932. Available at: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73236-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73236-1).

McNatty, K.P. *et al.* (1979) ‘The microenvironment of the human antral follicle: Interrelationships among the steroid levels in antral fluid, the population of granulosa cells, and the status of the oocyte in vivo and in vitro’, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 49(6), pp. 851–860. Available at: <https://doi.org/10.1210/jcem-49-6-851>.

Menchaca, A. and Rubianes, E. (2001) ‘Relation between progesterone concentrations during the early luteal phase and follicular dynamics in goats.’, *Rev of Theriogenology*, 57, pp. 1411–1419.

Miller, W.L. (1988) ‘Molecular Biology of Steroid Hormone Synthesis’, *Endocr Rev*, 9(3), pp. 295–318. Available at: <https://doi.org/10.1210/edrv-9-3-295>.

Miyamoto, A., Shirasuna, K. and Sasahara, K. (2009) ‘Local regulation of corpus luteum development and regression in the cow: Impact of angiogenic and vasoactive factors’, *Domestic Animal Endocrinology*, 37(3), pp. 159–169. Available at:

<https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2009.04.005>.

- Montes, J. (2012) *Metabolismo del tejido graso en terneros alimentados con fuentes ricas en ácidos grasos poli-insaturados*. Navarra, España. Available at: <https://academica-e.unavarra.es/bitstream/handle/2454/6608/577930.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (Accessed: 31 May 2022).
- Mudron, P. *et al.* (2004) 'Venous and arterial ammonia in dairy cows with fatty liver and hepatic failure', *Vet Med Czech*, 49(6), pp. 187–190.
- Muñoz, A., Ramos, F. and Ortiz, C. (2010) 'Evaluación del contenido de fitoesteroles, compuestos fenólicos y métodos químicos para determinar la actividad antioxidante en semilla de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.)', *Rev. Soc. Quím. Perú*, 76(3), pp. 234–241.
- Muñoz Jáuregui, A.M. *et al.* (2013) 'Estudio nutricional de *Plukenetia huayllabambana* sp. nov.', *Rev Soc Quím Perú.*, 79(1), pp. 47–56.
- Navarra, C. universidad de (2007) *Diccionario medico: Esteroidogénesis*. Available at: https://www.google.com.pe/search?q=esteroidogenesis&rlz=1C2RUCY_esPE698PE698&biw=1366&bih=589&source=Int&tbs=cdr%3A1%2Ccd_min%3A2000%2Ccd_max%3A2017&tbm=.
- Niswender, G.D. *et al.* (1994) 'Luteal function: the estrous cycle and early pregnancy.', *Biology of reproduction*, 50(2), pp. 239–247. Available at: <https://doi.org/doi.org/10.1095/biolreprod50.2.239>.
- Niswender, G.D. *et al.* (2000) 'Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum.', *Physiological reviews*, 80(1), pp. 1–29. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10617764>.
- Niswender, G.D. (2002) 'Molecular control of luteal secretion of progesterone', *Reproduction*, 123(3), pp. 333–339. Available at: <https://doi.org/10.1530/reprod/123.3.333>.
- Ortiz, S. *et al.* (2009) *Extracción y caracterización de aceite de semillas de zapallo*. Palmira. Available at:

http://revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/11508/12153.

Osorio, J.H. and Vinazco, J. (2010) 'El metabolismo lipídico bovino y su relación con la dieta, condición corporal, estado productivo y patologías asociadas', *Biosalud*, 9, pp. 56-66. Available at: <http://www.scielo.org.co/pdf/biosa/v9n2/v9n2a07.pdf> (Accessed: 25 November 2021).

Padilla, M.A. (2015) *Concentraciones de progesterona al momento de la inseminación artificial y su relación con la tasa de concepción y producción láctea en vacas lecheras de raza Holstein en una hacienda de la provincia de Pichincha – Ecuador*. Universidad San Francisco de Quito.

Padrón, D.R.S. (1990) *Temas de reproducción femenina*. Habana: Editorial Científico Técnica.

Pawlosky, R.J. *et al.* (2001) 'Physiological compartmental analysis of alpha-linolenic acid metabolism in adult humans.', *Journal of lipid research*, 42(8), pp. 1257–65. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11483627>.

Peet, M. and Stokes, C. (2005) 'Omega-3 fatty acids in the treatment of psychiatric disorders', *Drugs*, 65(8), pp. 1051–1059. Available at: <https://doi.org/10.2165/00003495-200565080-00002>.

Pereira, G. *et al.* (2022) 'Effects of feeding rumen-protected linseed fat to postpartum dairy cows on plasma n-3 polyunsaturated fatty acid concentrations and metabolic and reproductive parameters', *Journal of Dairy Science*, 105(1), pp. 361–374. Available at: <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20674>.

Perú ecológico (2007) *Zapallo (Cucurbita maxima)*. Available at: http://www.peruecologico.com.pe/flo_zapallo_1.htm (Accessed: 22 October 2017).

Peter, A.T. *et al.* (2009) 'Compilation of classical and contemporary terminology used to describe morphological aspects of ovarian dynamics in cattle', *Theriogenology*, 71(9), pp. 1343–1357. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.12.026>.

- Phillips, D.J. and de Kretser, D.M. (1998) 'Follistatin: a multifunctional regulatory protein.', *Front Neuroendocrinol*, 19(4), pp. 287–322. Available at: <https://doi.org/10.1006/frne.1998.0169>.
- Pinto, P. *et al.* (2009) *Comparación de las concentraciones plasmáticas de Progesterona en vacas implantadas con dispositivos intravaginales y vacas gestantes.*, Tesis de pregrado. Universidad de Zamorano-Honduras.
- Portillo, G. (2013) *Reproducción animal*.
- Pritchard, J.Y., Schrick, F.N. and Inskeep, E.K. (1994) 'Relationship of pregnancy rate to peripheral concentrations of progesterone and estradiol in beef cows', *Theriogenology*, 42(2), pp. 247–259. Available at: [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(94\)90269-0](https://doi.org/10.1016/0093-691X(94)90269-0).
- Rahe, C.H. *et al.* (1980) 'Pattern of plasma luteinizing hormone in the cyclic cow: Dependence upon the period of the cycle', *Endocrinology*, 107(2), pp. 498–503. Available at: <https://doi.org/10.1210/endo-107-2-498>.
- Rajapaksha, W.R.A.K.J.S. *et al.* (1997) 'Sequence of the bovine HDL-receptor (SR-BI) cDNA and changes in receptor mRNA expression during granulosa cell luteinization in vivo and in vitro', *Molecular and Cellular Endocrinology*, 134(1), pp. 59–67. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0303-7207\(97\)00173-1](https://doi.org/10.1016/S0303-7207(97)00173-1).
- Ramírez, F. *et al.* (2006) 'Relación entre pastoreo, metabolismo y reproducción en hembras bovinas en Portuguesa.', in Luz-FCV (ed.) *X Seminario, Manejo y utilización de pastos y forrajes en sistemas de producción animal*. Maracaibo Venezuela, pp. 165-173.
- Raphael, B.C., Dimick, P.S. and Puppione, D.L. (1973) 'Lipid Characterization of Bovine Serum Lipoproteins Throughout Gestation and Lactation', *Journal of Dairy Science*, 56(8), pp. 1025–1032. Available at: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(73\)85300-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(73)85300-7).
- Rathbone, M.J. *et al.* (2001) 'Recent advances in bovine reproductive endocrinology and physiology and their impact on drug delivery system design for the control of the estrous cycle in cattle', *Advanced Drug Delivery Reviews*, 50(3), pp. 277–320. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(01\)00156-9](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(01)00156-9).

- Rayssiguier, Y., Mazur, A. and Gueux, E. (1988) 'Plasma lipoprotein and fatty liver in dairy cows.', *Res Vet Sci.*, 45, pp. 389–393.
- Reis, M.M. *et al.* (2012) 'Effects of calcium salts of polyunsaturated fatty acids on productive and reproductive parameters of lactating Holstein cows', *Journal of Dairy Science*, 95, pp. 7039–7050. Available at: <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.3168/jds.2012-5502>.
- Rekawiecki, R. *et al.* (2008) 'Regulation Of Progesterone Synthesis And Action In Bovine Corpus Luteum', *Journal of physiology and pharmacology*, 59(Suppl 9), pp. 75–89. Available at: http://www.jpp.krakow.pl/journal/archive/12_08_s9/pdf/75_12_08_s9_article.pdf.
- Richards, J.S. *et al.* (1976) 'Ovarian Follicular Development in the Rat: Hormone Receptor Regulation by Estradiol, Follicle Stimulating Hormone and Luteinizing Hormone', *Endocrinology*, 14(82), pp. 1562–1570. Available at: <https://doi.org/10.1210/endo-99-6-1562>.
- Roche, J.F. (1996) 'Control and regulation of folliculogenesis--a symposium in perspective', *Reviews of reproduction*, 1(1), pp. 19–27. Available at: <https://doi.org/10.1530/ror.0.0010019>.
- Roelofs, J. *et al.* (2010) 'When is a cow in estrus? Clinical and practical aspects', *Theriogenology*, 74(3), pp. 327–344. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.02.016>.
- Roelofs, J.B. *et al.* (2005) 'Various behavioral signs of estrous and their relationship with time of ovulation in dairy cattle', *Theriogenology*, 63(5), pp. 1366–1377. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.07.009>.
- Romero, A. *et al.* (2014) *Efecto de la adición de grasa protegida en la edad de inicio de la pubertad de corderas Suffolk*. Universidad autonoma del estado de Mexico.
- Romero, G. (1999) *Regulación de la esteroidogénesis Adrenal : Efectos de endotelina y ACTH, y Rol de la 11beta- Hidroxiesteroide Deshidrogebnasa*. Universidad de Buenos Aires. Available at: http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_3228_Romero.pdf.

- Rosell, R.P. (2004) 'Regulación neuroendocrina del ciclo estral en los animales domésticos', *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET*, 5(7), pp. 1–25. Available at: www.veterinaria.org.
- Rossato, W. (2000) 'Condición metabólica pos-parto en vacas lecheras de un rebaño de Rio grande de Sul', in *Disertación - Maestrado en Ciencias Veterinarias*. Porto Alegre. Brasil: Universidad Federal de Rio Grande do Sul, p. 105.
- Ryan, K.J. and Petro, Z. (1966) 'Steroid biosynthesis by human ovarian granulosa and thecal cells.', *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 26(1), pp. 46–52. Available at: <https://doi.org/10.1210/jcem-26-1-46>.
- Salvador, A. *et al.* (2011) *Respuesta productiva y reproductiva al uso de la grasa sobrepasante con altos niveles de ácidos grasos poliinsaturados en rumiantes*. Researchgate.net. Available at: <https://www.researchgate.net/publication/273003408>.
- Sanderson, J.T. (2006) 'The steroid hormone biosynthesis pathway as a target for endocrine-disrupting chemicals', *Toxicological Sciences*, 94(1), pp. 3–21. Available at: <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfl051>.
- Santos, J.E.P. *et al.* (2008) 'Long Chain Fatty Acids of Diet as Factors Influencing Reproduction in Cattle Fatty Acids, Follicle Development and', *Reprod Dom Anim*, 43(Supp. 2), pp. 23–30. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01139.x>.
- Sartori, R. *et al.* (2004) 'Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of Holstein heifers and lactating cows.', *Journal of dairy science*, 87(4), pp. 905–920. Available at: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73235-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73235-X).
- Scollan, N. *et al.* (2006) 'Innovations in beef production systems that enhance the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality', *Meat Science*, 74(1), pp. 17–33. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.05.002>.
- Shima, S., Mitsunaga, M. and Nakao, T. (1972) 'Effect of ACTH on cholesterol dynamics in rat adrenal tissue', *Endocrinology*, 90(3), pp. 808–814. Available at:

<https://doi.org/10.1210/endo-90-3-808>.

De Silva, A.W. *et al.* (1981) 'Interrelationships with estrous behavior and conception in dairy cattle.', *Journal of dairy science*, 64(12), pp. 2409–18. Available at: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(81\)82864-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(81)82864-0).

Skarzynski, D.J., Jaroszewski, J.J. and Okuda, K. (2001) 'Luteotropic Mechanisms in the Bovine Corpus Luteum: Role of Oxytocin, Prostaglandin F_{2α}, Progesterone and Noradrenaline Luteotropic Role of Luteal Oxytocin', *Journal of Reproduction and Development*, 47(3), pp. 125–137. Available at: https://www.jstage.jst.go.jp/article/jrd/47/3/47_3_125/_pdf.

Skarzynski, D.J. and Okuda, K. (1999) 'Sensitivity of bovine corpora lutea to prostaglandin F_{2α} is dependent on progesterone, oxytocin, and prostaglandins.', *Biology of reproduction*, 60(6), pp. 1292–1298. Available at: <https://doi.org/10.1095/biolreprod60.6.1292>.

Smith, W.L., Marnett, L.J. and DeWitt, D.L. (1991) 'Prostaglandin and thromboxane biosynthesis', *Pharmacology and Therapeutics*, 49(3), pp. 153–179. Available at: [https://doi.org/10.1016/0163-7258\(91\)90054-P](https://doi.org/10.1016/0163-7258(91)90054-P).

Staples, C.R., Burke, J.M. and Thatcher, W.W. (1998) 'SYMPOSIUM: OPTIMIZING ENERGY NUTRITION FOR REPRODUCING DAIRY COWS Influence of Supplemental Fats on Reproductive Tissues and Performance of Lactating Cows 1', *Journal of Dairy Science*, 81(3), pp. 856–871. Available at: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75644-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75644-9).

Starbuck, G.R. *et al.* (2006) 'Timing of follicular phase events and the postovulatory progesterone rise following synchronisation of oestrus in cows', *The Veterinary Journal*, 172(1), pp. 103–108. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2005.02.006>.

Stocco, C., Telleria, C. and Gibori, G. (2007) 'The molecular control of corpus luteum formation, function, and regression', *Endocrine Reviews*, 28(1), pp. 117–149. Available at: <https://doi.org/10.1210/er.2006-0022>.

Stocco, D. and Clark, B.J. (1996) 'Regulation of the acute production of steroids in steroidogenic cells', *Endocrine Reviews*, 17(3). Available at:

<https://doi.org/10.1210/edrv-17-3-221>.

Stocco, D.M. *et al.* (2005) 'Multiple signaling pathways regulating steroidogenesis and steroidogenic acute regulatory protein expression: more complicated than we thought.', *Molecular endocrinology*, 19(11), pp. 2647–59. Available at: <https://doi.org/10.1210/me.2004-0532>.

Thatcher, W.W. *et al.* (1994) 'Concepts for regulation of corpus luteum function by conceptus and ovarian follicles to improve fertility', *Journal Animal Science*, 72, pp. 16-30.

Thomas, M.G., Bao, B. and Williams, G.L. (1997) 'Dietary Fats Varying in Their Fatty Acid Composition Differentially Influence Follicular Growth in Cows Fed Isoenergetic Diets', *Journal of Animal Science*, 75(9), pp. 2512–2519.

Toalombo, P.A., Almeida, F.A. and Guevara, H.P. (2022) 'Efecto reproductivo y productivo de grasas bypass como alternativa para la nutrición y alimentación de ganado lechero Holstein', *ESPOCH Congresses: The Ecuadorian Journal of S.T.E.A.M.*, pp. 728–746. Available at: <https://doi.org/10.18502/espoch.v2i2.11425>.

Ulfina, G., Kimothi, S.S. and Kumaresan, A. (2020) 'Influencia del alimento enriquecido con omega – 3 ácidos grasos sobre los marcadores bioquímicos y el rendimiento reproductivo postparto de vacas lecheras crizadas', *J. Indian Vet. Assoc*, 18(1), pp. 110–122.

Vann, R. *et al.* (2002) *Reproductive efficiency can be influenced through cholesterol profiles in beef heifers fed a high fat cube*. Georgia.

Wang, X. *et al.* (2000) 'The role of arachidonic acid in steroidogenesis and steroidogenic acute regulatory (StAR) gene and protein expression', *Journal of Biological Chemistry*, 275(26), pp. 20204–20209. Available at: <https://doi.org/10.1074/jbc.M003113200>.

Wathes, D.C., Abayasekara, D.R.E. and Aitken, R.J. (2007) 'Polyunsaturated Fatty Acids in Male and Female Reproduction1', *Biology of Reproduction*, 77(2), pp. 190–201. Available at: <https://doi.org/10.1095/biolreprod.107.060558>.

- Weems, C.W., Weems, Y.S. and Randel, R.D. (2006) 'Prostaglandins and reproduction in female farm animals', *Veterinary Journal*, 171(2), pp. 206–228. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2004.11.014>.
- Weems, Y.S. *et al.* (2007) 'Effect of luteinizing hormone (LH), pregnancy-specific protein B (PSPB), or arachidonic acid (AA) on secretion of progesterone and prostaglandins (PG) E (PGE; PGE1 and PGE2) and F2 α (PGF2 α) by ovine corpora lutea of the estrous cycle or pregnancy in vitro', *Prostaglandins and Other Lipid Mediators*, 84(3–4), pp. 163–173. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.prostaglandins.2007.08.002>.
- West, J.W., Mullinix, B.G. and Sandifer, T.G. (1991) 'Effects of Bovine Somatotropin on Physiologic Responses of Lactating Holstein and Jersey Cows During Hot, Humid Weather', *Journal of Dairy Science*, 74(3), pp. 840–851. Available at: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78233-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78233-7).
- Wiltbank, M.C. *et al.* (2014) 'The physiology and impact on fertility of the period of proestrus in lactating dairy cows', *Animal Reproduction*, 11(2), pp. 225–236. Available at: <http://hdl.handle.net/11449/117703>.
- Zachut, M. *et al.* (2008) 'Dietary unsaturated fatty acids influence preovulatory follicle characteristics in dairy cows', *Reproduction*, 135, pp. 683–692. Available at: <https://doi.org/10.1530/REP-07-0556>.
- Zachut, M., Arieli, A. and Moallem, U. (2011) 'Incorporation of dietary n-3 fatty acids into ovarian compartments in dairy cows and the effects on hormonal and behavioral patterns around estrus', *Reproduction*, 141(6), pp. 833–840. Available at: <https://doi.org/10.1530/REP-10-0518>.
- Zarate, J. *et al.* (2011) 'Efecto de la alimentación con grasas protegidas en vacas de doble propósito.', *Agronomía mesoamericana México*, 22(2), pp. 359-366.
- Zarazaga L., A. *et al.* (2011) 'Artificial long days and daily contact with bucks induce ovarian but not oestrous activity during the non-breeding season in Mediterranean goat females.', *Rev of Anim Reprod Sci.*, 125, pp. 81–87.
- Zhuang, L.Z., Adashi, E.Y. and Hsueh, A.J. (1982) 'Direct enhancement of gonadotropin-stimulated ovarian estrogen biosynthesis by estrogen and clomiphene citrate',

Endocrinology, 110(6), pp. 2219–2221. Available at: <https://doi.org/10.1210/endo-110-6-2219>.