



Inclusión de ácidos grasos poliinsaturados en la dieta para ovejas de pelo superovuladas

Guadalupe A Delgado-Tiburcio  , Cesar Cortez-Romero¹  , Arturo Pro- Martínez  ,
José A. Hernández-Marín²  , Jaime Gallegos-Sánchez³  

Colegio de Postgraduados, Recursos Genéticos y Productividad-Ganadería, Campus Montecillo,
Carretera México-Texcoco km. 36.5, Montecillo, Texcoco, C.P. 56230, Estado de México, México.

Inclusion of polyunsaturated fatty acids in the diet for superovulated hair sheep

Abstract. In the present study, 12 pelibuey sheep, in good body condition and cycling were used. They were randomly assigned to one of two treatments: Treatment 1, sheep supplemented with avocado oil (5% of diet; T1; n=6); and Treatment 2, control sheep (no avocado oil in the diet; T2; n=6), both diets were offered for seven days (2 kg/animal/day). All sheep were synchronized with a progesterone-releasing intravaginal device (CIDR®), considering day 0 the insertion of the device. For sheep donor, the experimental diet began to be offered on day 5 and for both donor treatments a protocol was used with decreasing doses of the FSH hormone applying 200 mg total, starting on day 6. For both treatments, a dose of PGF2 α and eCG was administered at day 7. On day 9, the CIDR® was removed and the detection of estrus began every 4 h with males equipped with aprons and proceeded to give natural riding to the presence of heat. Seven days after mounting, embryos were collected from superovulated sheep by laparotomy, and then transferred to the recipients. At the time of washing, it was found that the ovulatory response was not very satisfactory, embryo collection was carried out only in 3 females of T1, 9 embryos were recovered and transferred, all successfully arriving at delivery. The present study showed a low ovulatory response to hormonal treatment, avocado oil supplementation showed no effects due to the poor response of females; however, good results were observed in the gestation rate, so we believe that more research is required.

Key word: polynsaturated fatty acids, avocado oil, superovulation, ovine.

Resumen. En el presente estudio se emplearon 12 ovejas de pelibuey, sanas, en buena condición corporal y ciclando. Se asignaron al azar a uno de dos tratamientos: Tratamiento 1, ovejas suplementadas con aceite de aguacate (5% de la dieta; T₁; n=6); y Tratamiento 2, ovejas testigo (sin aceite de aguacate en la dieta; T₂; n=6), ambas dietas se ofrecieron durante siete días (2 kg/animal/día). Todas las hembras se sincronizaron con un dispositivo intravaginal liberador de progesterona (CIDR®), considerándose el día 0 la inserción del dispositivo. Para las hembras donadoras, la dieta experimental se comenzó a ofrecer el día 5 y para ambos tratamientos de donadoras se empleó un protocolo con dosis decrecientes de la hormona FSH aplicándose 200 mg totales, iniciando el día 6. Para ambos tratamientos, al día 7 se administró una dosis de PGF2 α y de eCG. Al día 9, se retiraron los CIDR® y se inició con la detección de estros cada 4 h con machos equipados con mandil, y se procedió a dar monta natural a la presencia de celo. A los siete días posteriores de la monta, se procedió a la recolección de embriones en las hembras superovuladas mediante una laparotomía, para luego ser transferidos a las receptoras. Al momento del lavado, se encontró que la respuesta ovulatoria no fue muy satisfactoria, se procedió a realizar la recolección de embriones solo en 3 hembras del T₁, se recuperaron 9 embriones y fueron transferidos, llegando con éxito todos al parto. El presente estudio mostró una

¹Colegio de Postgraduados, Innovación en Manejo de Recursos Naturales, Campus San Luis Potosí, Iturbide No. 73, Salinas de Hidalgo, C.P. 78600, San Luis Potosí, México.

²Universidad de Guanajuato. Departamento de Veterinaria y Zootecnia, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca. Exhacienda El Copal, km. 9, Carretera Irapuato-Silao, Irapuato, C.P. 36824, Guanajuato, México.

³Autor para correspondencia: gallegos@colpos.mx

respuesta ovulatoria baja al tratamiento hormonal, la suplementación de aceite de aguacate no mostró efectos por la poca respuesta de las hembras; sin embargo, se observaron buenos resultados en la tasa de gestación, por lo cual consideramos que se requiere mayor investigación.

Palabras clave: ácidos grasos poliinsaturados, aceite de aguacate, superovulación, ovinos.

Inclusão de ácidos graxos poliinsaturados na dieta de ovelhas deslanadas superovuladas

Resumo. No presente estudo foram utilizadas 12 ovelhas pelibuey, hígdas, em bom estado corporal e ciclando. Eles foram distribuídos aleatoriamente em um dos dois tratamentos: Tratamento 1, ovinos suplementados com óleo de abacate (5% da dieta; T1; n=6); e Tratamento 2, ovelhas controle (sem óleo de abacate na dieta; T2; n=6), ambas as dietas foram oferecidas por sete dias (2 kg/animal/dia). Todas as fêmeas foram sincronizadas com dispositivo intravaginal liberador de progesterona (CIDR®), considerando o dia 0 a inserção do dispositivo. Para as fêmeas doadoras, a dieta experimental passou a ser oferecida no dia 5 e para ambos os tratamentos de doadoras foi utilizado um protocolo com doses decrescentes do hormônio FSH, aplicando um total de 200 mg, iniciando no dia 6. Para ambos os tratamentos, no dia 7 o administrado uma dose de PGF2 α e eCG. No dia 9, os CIDR® foram removidos e a detecção de estro começou a cada 4 horas com os machos equipados com avental, e a monta natural foi realizada na presença de cio. Sete dias após a cobertura, foram coletados embriões das fêmeas superovuladas por meio de laparotomia, para posterior transferência para as receptoras. No momento da lavagem, verificou-se que a resposta ovulatória não foi muito satisfatória, foi realizada coleta de embriões apenas em 3 fêmeas T1, 9 embriões foram recuperados e transferidos, todos chegando ao parto com sucesso. O presente estudo mostrou uma baixa resposta ovulatória ao tratamento hormonal, a suplementação com óleo de abacate não apresentou efeitos devido à baixa resposta das fêmeas; no entanto, foram observados bons resultados na taxa de prenhez, pelo que consideramos que são necessárias mais pesquisas.

Palavras-chave: ácidos graxos poliinsaturados, óleo de abacate, superovulação, ovinos.

Introducción

La ovulación múltiple para la transferencia de embriones (MOET) es una estrategia reproductiva, en la cual se seleccionan hembras “superiores” que se estimulan hormonalmente, con la finalidad de aumentar la tasa ovulatoria y fertilizar un gran grupo de ovocitos a la vez, para producir embriones y transferirlos a otras hembras. La ovulación múltiple o superovulación es un importante paso en los programas de MOET, para estimular a las hembras a través de dosis de hormonas gonadotropas, para que un mayor número de ovocitos lleguen a la ovulación (Maciel *et al.*, 2017). Uno de los mayores retos de la superovulación sigue siendo hasta la fecha la variación de la respuesta ovulatoria con el empleo de hormonas exógenas, siendo una de las principales limitaciones en la eficiencia de los programas del MOET (Herrera-Camacho *et al.*, 2001).

El empleo de hormonas gonadotropas como la FSH en dosis decrecientes combinada con una dieta alta en energía y proteína, antes de la fertilización propone una alternativa para incrementar la tasa de recuperación de ovocitos o embriones. Previo a la ovulación, el efecto de la suplementación energética (*flushing*) permite un incremento en la fertilidad y prolificidad general del rebaño, debido a que la composición de la dieta puede

tener efectos en el ovocito y en el desarrollo embrionario temprano (Ashworth *et al.*, 2009). Aunque, esta práctica de manejo tiene poca efectividad cuando el rebaño mantiene una condición corporal de media a alta. En este sentido, se ha demostrado que dietas ricas en ácidos grasos poliinsaturados (oleico, linoleico y linolénico) puede ser utilizada para modificar algunos procesos fisiológicos ováricos (Herrera-Camacho *et al.*, 2001), debido a que, tienen efectos específicos en diferentes tejidos, con beneficios potenciales en la fertilidad, los cuales, parecen ser independientes de la disposición de calorías y cambios en el estado energético del animal (Santos *et al.*, 2008), la esteroidogénesis (Hughes *et al.*, 2011), el metabolismo de las células endometriales (Kirkup *et al.*, 2010), calidad de los ovocitos y desarrollo de embriones (Sturme *et al.*, 2009).

Con base en estas observaciones, existen evidencias que indican que la suplementación con ácidos grasos poliinsaturados en la dieta puede influir en la respuesta al tratamiento con gonadotropinas en esquemas de ovulación múltiple, de tal forma que el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la inclusión de ácidos grasos poliinsaturados en la dieta de ovejas superovuladas con dosis decrecientes de FSH.

Materiales y Métodos

El presente estudio se realizó en julio en el Laboratorio de Reproducción de Ovinos y Caprinos (LaROCa) del Colegio de Posgraduados, ubicado en Montecillo, municipio de Texcoco, Estado de México. Localizado a 10°29'N y 98°52'O, a una altitud de 2250 msnm. El clima es templado subhúmedo con lluvias en verano Cb (wo) (w) (i), con precipitación de 636.5 mm y temperatura media anual de 15.5°C (García, 1989). Para garantizar el bienestar animal, se realizó el experimento de acuerdo al reglamento para uso y cuidado de los animales destinados a la investigación en el Colegio de Postgraduados.

Unidades experimentales

Se utilizaron 12 ovejas de pelibuey, sexualmente maduras, ciclando, múltiparas, clínicamente sanas y en buena condición corporal. Éstas se mantuvieron estabuladas en corrales techados y separadas de los machos durante la fase experimental. Se conformaron dos tratamientos completamente al azar: Tratamiento 1, ovejas suplementadas con 5% de aceite de aguacate en la dieta (T1; n=6); y Tratamiento 2, ovejas testigo con dieta sin aceite de aguacate (T2; n=6), ambas dietas se ofrecieron durante siete días. Todas las donadoras fueron desparasitadas con Albendanzol vía oral y vitaminadas (ADE; Vigantol®) vía intramuscular acorde al peso de cada animal una semana previa al experimento.

Donadoras

Para las donadoras de ambos tratamientos se realizó un protocolo de superovulación estandarizado en LaROCa (descrito en la Figura 1). Éste consistió en la inserción de un CIDR® por nueve días (el día que se insertó se consideró el día 0), más la administración intramuscular de 200 mg de FSH-P (Folltropin®) en dosis decrecientes (40, 40, 30, 30, 20, 20, 10, 10 mg AM/PM respectivamente) a partir de día seis, el día 7 se aplicó 100 UI de eCG (Novormon®) y 5 mg de Prostaglandina F2 α (Lutalyse®) vía intramuscular, se retiró el CIDR® en el día 9, y se procedió a detectar los estros cada cuatro horas, por espacios de 30 min, durante 72 h, utilizando para ello, machos provistos de un mandil para detectar a las hembras en celo, las cuales recibieron servicio por monta al momento, a las 12 y 18 h de haber detectado el estro.

Receptoras

Se utilizaron 48 receptoras (proporción de 4:1, receptoras por donadora). Las ovejas receptoras se sincronizaron con CIDR® al igual que las hembras donadoras, en el día 7 se aplicó 100 UI de eCG (Novormon®) y 5 mg de Prostaglandina F2 α (Lutalyse®) vía intramuscular, el día nueve se retiraron los CIDR® y se realizó detección de estros durante 30 min, cada cuatro horas hasta las 72 h, utilizando machos celadores provistos de un mandil.

Flushing

Previo al experimento las ovejas consumieron una dieta compuesta con concentrado comercial, complementado con forraje. El día cinco se proporcionó la dieta experimental en una ración de 2 kg/animal/día (12% PC y 3500 Kcal ED) durante siete días (ambas dietas estaban compuestas por: paja de avena, alfalfa, concentrado, maíz, minerales; la dieta experimental se le incorporó 5% de aceite de aguacate y al control 5% de melaza).

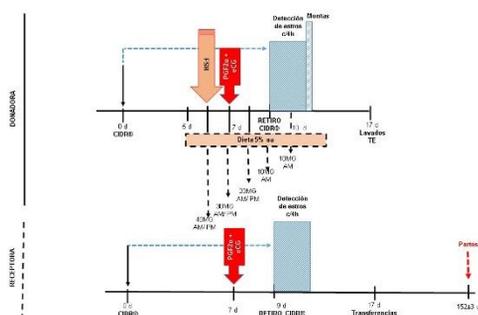


Figura 1. Protocolo de superovulación para las ovejas donadoras y sincronización para las ovejas receptoras.

Recolecta de embriones

Para la recolección de los embriones se procedió a depilar la zona abdominal y desinfectar con yodo espumoso, la oveja se sedó con xilacina (2 mg/10 kg, 2%), y como anestésico se empleó ketamina (1.1 mg/10 kg). La hembra se colocó en un plano inclinado a 45° (cabeza abajo), con ayuda de una camilla especializada. Se colocaron campos quirúrgicos y se aplicó lidocaína al 2% como anestesia local (1 mL), en los diferentes planos de la piel. Luego se procedió a realizar una incisión sobre la línea media aproximadamente de 5 a 7 cm de longitud y a 3 cm arriba de la ubre. Se exteriorizó el útero y se observó en cada uno de los ovarios la presencia de tres cuerpos lúteos (CL). Las hembras que no tuvieron respuesta se descartaron y en las hembras en las que se observó presencia de CL, se procedió a realizar el lavado, para lo cual se introdujo un catéter y se administraron 40 mL con solución de colecta de embriones (Holding, Vigro™ Bioniche) previamente atemperado a 38°C, en la punta del cuerno uterino (infundíbulo del oviducto) y en la base del útero se colocó una sonda de Foley de manera que el medio arrastrará los embriones que se encontraban en el cuerno uterino hacia el útero y por gravedad salieran por la sonda de Foley, hacia un filtro para embriones y el sobrante en un tubo de Falcon de 50 mL. El contenido del filtro para embriones se colocó en una caja de búsqueda de embriones y se observó en un microscopio estereoscópico a 200X. Una vez recolectados se seleccionaron y se montaron individualmente en TomCats para la transferencia

Transferencia de embriones

A las hembras receptoras se les realizó una laparotomía para exteriorizar parte del cuerno uterino ipsilateral al CL y realizar la transferencia. Una vez exteriorizada se realizó una punción con un punzocat 18 G y se insertó un TomCat que contenía el embrión. Finalmente, se procedió a suturar los campos abdominales. Durante la laparotomía, se hidrató el útero, cuernos uterinos y ovarios con solución salina para evitar la formación de adherencias.

Variables evaluadas. Porcentaje de ovejas con respuesta superovulatoria, el número total de CL, cantidad de embriones totales y calidad embrionaria.

Análisis estadístico. El presente estudio no pudo ser sometido a un análisis estadístico, debido a la poca respuesta de la mayoría de las hembras.

Resultados y Discusión

El presente trabajo pretendía probar la respuesta de la adición del aceite de aguacate sobre la superovulación; sin embargo, solo se pudieron lavar un total de 3 hembras del T1. La respuesta se describe en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Respuesta a la superovulación

Tx	DONADORA		RESPUESTA	
	HORA ESTRO	CL IZQ	CL DER	
1	24.16	3	4	
1	30.16	3	0	
1	30.32	2	0	

Tx: Tratamientos; CL IZQ, es cuerpo lúteo izquierdo y CL DER, es el cuerpo lúteo derecho de cada donadora

El resto de las donadoras presentaron uno o ningún CL por lo cual no se lavaron y se les permitió continuar con la gestación. De las tres ovejas que se lavaron, se recuperaron 9 blastocistos calidad 1 que fueron transferidos a 9 hembras receptoras, y las 9 hembras receptoras quedaron gestantes y llegaron al parto.

Se debe entender que la superovulación se acompaña de la sincronización y está se basa en la simulación de los eventos endocrinos que regulan el ciclo estral de la oveja, con la finalidad de inducir el estro y estimular el crecimiento y la ovulación de la población de folículos en un momento determinado. Los protocolos utilizados para superovular son básicamente la combinación de un tratamiento de sincronización de estros y de la ovulación, en conjunto con un tratamiento de sobrestimulación ovárica. Menchaca *et al.* (2007) reportaron que se estima que el 85 % de los protocolos de superovulación tradicionales, las donantes tienen folículos dominantes al momento de iniciar los tratamientos con FSH, esto se correlaciona negativamente con la respuesta obtenida al tratamiento, debido a que la presencia de folículos de gran tamaño o dominantes antes de la hiperestimulación ovárica, no parece afectar significativamente a la tasa de ovulación, pero sí se ha relacionado con un menor

número y calidad de los embriones obtenidos. Para lo cual, se sugiere inhibir el folículo dominante para iniciar con el tratamiento de superovulación con (González-Bulnes *et al.*, 2000; González-Bulnes *et al.*, 2002).

Posteriormente se procede a buscar un protocolo que cumpla con las características de las hembras en estudio, siendo los protocolos más empleados los reportados por López *et al.* (2006) quienes observaron una buena respuesta a la superovulación con dosis decrecientes de FSH ovina, con respecto a su administración en dosis constantes encontrando diferencias en cuanto a la tasa de recuperación (75.61% vs 63.58%; $P < 0.05$), variable que se expresa en el número de embriones recuperados entre el número de CL contabilizados en laparoscopia expresada en porcentaje.

Herrera-Camacho *et al.* (2008) señalaron que la adición de aceite de maíz, rico en ácidos grasos poliinsaturados, favorece la respuesta superovulatoria en términos de número de CL, células colectadas totales y embriones, además de incrementar el número de embriones en estado de mórula. Cansino-Arroyo *et al.* (2009) reportaron que una dieta rica en ácidos grasos poliinsaturados favoreció positivamente la prolificidad, sin afectar el peso vivo. Por último, es importante mencionar que existen motivos por los cuales falla la respuesta de superovulación, por ejemplo, Khan *et al.* (2022) señalaron que la exposición a dosis prolongadas o varios protocolos de superovulación para el mismo animal posee muchas desventajas, generando fallo en la respuesta al tratamiento. También, pueden afectar la tasa ovulatoria los factores genéticos. Bindon *et al.* (1986) señalaron en el protocolo de superovulación en las hembras donadoras se puede presentar alrededor del 50% de respuesta, mientras que en las hembras reproductoras se puede esperar que al menos un 20% no responderán al tratamiento. Así como, la relación dosis-peso vivo del animal: Resendiz-Aguilar *et al.* (2022) señalaron que se deben ajustar los protocolos en función a la raza, peso y edad para evitar la excesiva superestimulación en las hembras de talla pequeña.

Conclusiones

El porcentaje de ovejas que respondieron a los protocolos hormonales del presente estudio, fue bajo, con un número de CL menores a lo reportado en la literatura. Respondieron, con cuerpos lúteos, tres hembras del tratamiento de inclusión de aceite de aguacate, sin embar-

go, a pesar que la respuesta fue mala, la tasa de gestación con los embriones recuperados de las hembras alimentadas con aceite de aguacate fue muy buena, por lo que se recomienda realizar más experimentos incluyendo el aceite de aguacate en la dieta.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo a otorgado al primer autor GADT como estudiante de Doctorado en Ciencias en

Recursos Genéticos y Productividad del Colegio de Posgraduados (becario 262912).

Conflicto de intereses: Los autores manifiestan que no existe ningún tipo de conflicto de intereses.

Literatura Citada

- Ashworth, C.L., M.T. Luiza and G.H. Morag, 2009. Nutritional effects on oocyte and embryo development in mammals: implications for reproductive efficiency and environmental sustainability. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 364: 3351-3361. <https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0184>
- Bindon, B.M., L.R. Piper, L.P. Cahill, M.A. Driancourt, and T O'Shea. 1986. Genetic and hormonal factors affecting superovulation. *Theriogenology*, 25(1):53-70. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(86\)90183-4](https://doi.org/10.1016/0093-691X(86)90183-4)
- Cansino-Arroyo, G., J. Herrera-Camacho and J.R. Aké-López. 2009. Tasas de concepción, fertilidad y prolificidad en ovejas alimentadas con dietas enriquecidas con ácidos grasos poliinsaturados. *Universidad y Ciencia*, 25(1):181-185.
- García, A.E. 1989. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen (para adaptarla a las condiciones de la república mexicana). 4ª ed. Instituto de Geografía. UNAM, México. 252 p.
- González-Bulnes, A., J. Santiago-Moreno, M.J. Cocero, C.J.H- Souza, N.P. Groome, R.M. Garcia-Garcia, A. Lopez-Sebastian and D.T. Baird. 2002. Measurement of inhibin A and follicular status predicts the response of ewes to superovulatory FSH treatments. *Theriogenology*, 57(4): 1263-1272. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00723-3](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00723-3)
- González-Bulnes, A., J. Santiago-Moreno, M.J. Cocero and A. Lopez-Sebastian. 2000. Effects of FSH commercial preparation and follicular status on follicular growth and superovulatory response in Spanish Merino ewes. *Theriogenology*, 54(7):1055-1064. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(00\)00414-3](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(00)00414-3)
- Herrera-Camacho, J., F.J.A. Quintal, V.J.C. Kú, A.A.M. Aguayo and L.G. Williams. 2001. Dinámica folicular y concentración sérica de lípidos en ovejas Pelibuey suplementadas con ácidos grasos poliinsaturados en la dieta. *Memorias del 2do. Congreso Latinoamericano de Especialistas en Pequeños Rumiantes y Camélidos Sudamericanos. XI Congreso Nacional de Ovinocultura. Mérida, Yucatán, México.*
- Herrera-Camacho, J., J.R. Aké-López, J.C. Ku-Vera, G.L. Williams and J.A. Quintal-Franco. 2008. Respuesta ovulatoria, estado de desarrollo y calidad de embriones de ovejas Pelibuey superovuladas suplementadas con ácidos grasos poliinsaturados. *Técnica Pecuaria en México*, 46(2) 107-117.
- Hughes, J., W.Y. Kwong, D. Li, M.A. Salter, R.G. Lea. And K.D. Sinclair. 2011. Effects of omega-3 and 6 polyunsaturated fatty acids on ovine follicular cell steroidogenesis, embryo development and molecular markers of fatty acid metabolism. *Reproduction*, 141: 105-118. <https://doi.org/10.1530/REP-10-0337>
- Khan, S.U., M.A. Jamal, Y. Su, H.J. Wei, Y. Qing and W. Cheng. 2022. Towards Improving the Outcomes of Multiple Ovulation and Embryo Transfer in Sheep, with Particular Focus on Donor Superovulation. *Vet Sci*, 9: 117. <https://doi.org/10.3390/vetsci9030117>
- Kirkup, S.E., Z. Cheng, M. Elmes, D.C. Whates, R.E. and D.R.E. Abayasekara. 2010. Polyunsaturated fatty acids modulate prostaglandin synthesis by ovine amnion cells *in vitro*. *Reproduction*, 140(6): 943-951. <https://doi.org/10.1530/REP-09-0575>
- López, F., J.R. Caballero, J.C. Peña, G.R.M. García and J.M. Cocero. 2006. Aplicación de dos protocolos de superovulación en un rebaño de ovejas de raza Manchega en producción láctea. [XXXI Jornadas Científicas y X Internacionales de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia \(SEOC\), Seoc. León Esp, 7: 398 - 400.](#)

- Maciel, G.S., M.G.K. Rodríguez, P.D.A. da Silva, R.P. Nociti, R.A.R. Uscategui, V.J.C. Santos, M.A.R. Feliciano, W.R.R. Vicente and M.E.F. Oliveira. 2017. Ovarian superstimulation treatment for multiple ovulation and embryo transfer programs in sheep. *Investigação*, 16, 8. <https://doi.org/10.26843/investigacao.v16i8.1888>
- Menchaca, A., M. Vilariño, M. Crispo, A. Pinezak, and E. Rubianes. 2007. Day 0 Protocol: Superstimulatory treatment initiated in the absence of the large follicle improves ovarian response and embryo yield in goats. *Theriogenology*, 68:1111-1117. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.07.020>
- Resendiz-Aguilar, O., R.D. Martínez-Rojero, V.O. Mejía-Villanueva, and J. Hernández-Ignacio. 2022. Evaluación de dos protocolos para transferencia de embriones en ovejas Obispo en la Montaña de Guerrero, México. *Ecosist Recur Agropec*, 9(1): e2847. <https://doi.org/10.19136/era.a9n1.2847>
- Santos, J., T. Bilby, W. Thatcher, C. Staples and F. Silvestre. 2008. Long chain fatty acids of diet as factors influencing reproduction in cattle. *Reprod Domest Anim*, 43:23-30. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01139.x>
- Sturmey, R., A. Reis, H. Léese and T. McEvoy. 2009. Role of fatty acids in energy provision during oocyte maturation and early embryo development. *Reprod Domest Anim*, 44:50-58. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2009.01402.x>