

## Capítulo XLIX

### Ácidos grasos omega 3 y 6 en la reproducción del macho bovino

**Pedro Cabrera  
Adriana Fernández**

---

Las empresas ganaderas son eficientes y sostenibles en la medida que alcancen óptimos rendimientos productivos y económicos. Estas metas son logradas en gran medida al elevar algunas de las tasas reproductivas. Sin embargo, estas tasas se encuentran directamente influenciadas por una gran diversidad de factores, como son edad, aspectos genéticos, sanitarios, climáticos y en especial, nutricionales. Entre los nutrientes, los lípidos tienen un rol crucial en la fertilidad del macho, ya que pueden ser consumidos como fuente de energía y de forma adicional, son un componente esencial de las membranas del espermatozoide, constituyendo un factor clave sobre la fertilidad, logrando afectarla a través de una acción directa e indirecta. Por un lado, influye directamente en el proceso de desarrollo del espermatozoide, por otro lado, influye sobre la concentración de las hormonas y otros metabolitos que afectan indirectamente estos procesos (Gholami *et al.*, 2011).

En el macho bovino la composición lipídica del semen varía con la edad; sin embargo, esto no implica que existan grandes diferencias debidas a la edad, lo cual se evidencia al evaluar la motilidad progresiva espermática entre toros jóvenes y adultos, no encontrando diferencias (Argov-Argaman *et al.*, 2013). Sin embargo, la composición de lípidos, en particular, la proporción de ácidos grasos poliinsaturados, ácidos grasos omega-3 y ácido docosahexaenoico, tanto en plasma seminal como en los espermatozoides es más baja en semen colectado de toros adultos que en toros jóvenes, sugiriendo que existe diferente nivel de absorción y/o metabolismo a través de la espermatogénesis dependiendo de la edad. La reducida proporción de ácidos grasos en toros adultos puede disminuir la fluidez de la membrana plasmática, lo cual afecta de manera negativa al espermatozoide durante la criopreservación y la fertilización.

Aunado a esto, el estrés calórico afecta la calidad seminal. Argov *et al.* (2007) evaluaron los cambios en la concentración de lípidos en semen colectado en periodo de alta y baja temperatura ambiental, observando que toros expuestos a estrés térmico reducen de manera significativa los niveles de ácido araquidónico poliinsaturado

(20:4), ácido linoleico (18:2) y la expresión del receptor de la lipoproteína de muy baja densidad (VLDLr) en los espermatozoides; a la vez reducen la concentración de colesterol y ácidos grasos en el plasma seminal. Estos cambios pueden explicar, en parte, la disminución de la calidad del semen reflejada tanto por la baja motilidad como por la alta mortalidad espermática, en toros expuestos a estrés calórico.

En referencia a la distribución lipídica del semen y los espermios es obligatorio afirmar que, la edad y la temperatura ambiental afectan negativamente su composición. Por lo tanto, en toros de alto valor genético, estos dos factores hay que tenerlos en cuenta, ya que los sementales logran valores precisos en las diferencias esperadas en la progenie (DEP) transcurridos varios años de uso, tanto por inseminación artificial como por monta natural, y aunado a nuestras condiciones tropicales en las cuales las temperaturas elevadas causan un innegable estrés calórico sobre los sementales, es necesario diseñar estrategias que preserven e incrementen el potencial genético contenido en los espermatozoides.

En dichas condiciones, la potencialidad del semental puede incrementarse con el uso de suplementación nutricional, ya que las investigaciones que documentan la relación existente entre la calidad de la alimentación y el desempeño productivo y reproductivo son abundantes.

## **GRASA SOBREPASANTE: UNA HERRAMIENTA ÚTIL EN LA ALIMENTACIÓN DEL MACHO BOVINO**

En la alimentación bovina, las fuentes de energía son limitantes, y debido a que las grasas poseen una alta densidad energética, son las principales fuentes de energía. Sin embargo, su uso en la alimentación de rumiantes ha estado tradicionalmente restringido a valores que no sobrepasan el 5% de la ración, porque si excede este nivel se altera en forma general, el proceso de fermentación del rumen, donde las grasas son radicalmente transformadas, y cuando llegan a la fase de digestión enzimática poseen características que tienen muy poca relación con el tipo de grasa suministrada en el alimento (Castellanos, 2011).

El aporte de nutrientes tanto por exceso como por defecto, altera el desempeño reproductivo del macho. Así, dietas hiper energéticas se asocian con deterioro de la calidad seminal en toretes púberes entre 11,5 y 13,5 meses de edad, sin embargo, es de considerar que en esta etapa, los toros aún tienen cambios en la calidad seminal debido a la pubertad (Rugeles *et al.*, 2012). Coulter *et al.* (1987) refieren mayor potencial reproductivo en toros alimentados con dietas que aportan niveles moderados de energía (con base en 100% de forraje) que en los reproductores alimentados con dietas que ofrecen elevados niveles de energía (con base en 80% de granos y 20% de forraje), debido a que el exceso de energía en la dieta afecta negativamente la motilidad progresiva y la morfología espermática, como producto de la acumulación de grasa a nivel escrotal, la cual interfiere con los mecanismos de termorregulación en el testículo.

A su vez, la desnutrición posee efectos adversos sobre la capacidad reproductiva del macho. Deficiencias en la provisión de macro y micronutrientes, incluyendo zinc, vitamina A, B<sub>12</sub>, B<sub>6</sub>, D, E, folato, selenio, níquel, manganeso, cromo, cobre, arginina, carnitina y ácidos grasos reducen el desempeño reproductivo (Cheah & Yang, 2011).

Hallazgos de investigaciones revelan que la deficiencia de ácidos grasos esenciales en el macho causa retardo en la madurez sexual, induce degeneración testicular e infertilidad (Brinsko *et al.*, 2005).

Los ácidos grasos omega-3 (ácido linolénico) y omega-6 (ácido linoleico) deben proveerse en la dieta, ya que son absolutamente necesarios para numerosos procesos fisiológicos, incluyendo el crecimiento, la reproducción, la visión y el desarrollo del cerebro, entre otros, y no pueden ser sintetizados por los tejidos animales. Estos dos ácidos grasos son conocidos como esenciales en la alimentación animal (Wathes *et al.*, 2007).

Las grasas sobrepasantes, también llamadas grasas de sobrepaso, técnicas, inertes, *by-pass*, protegidas o jabones cálcicos, son suplementos energéticos ricos en ácidos grasos esenciales destinados a rumiantes, los cuales no interactúan con la fermentación ruminal y previa disociación en el abomaso, son absorbidos en el intestino delgado. Se consideran como la mejor fuente de energía metabólica porque tienen 2,5 veces más energía que un carbohidrato, con muy bajo impacto para el sistema digestivo, debido a que son rápidamente absorbidos (Gulliver *et al.*, 2012).

La digestión de la grasa sobrepasante, depende de la presencia de secreciones biliares y pancreáticas. En el duodeno, la bilis aporta lecitina (fosfatidil-colina), que se convertirá en lisolecitina debido a la acción de la lipasa pancreática. Este compuesto, junto con las sales biliares, actúa como un potente agente emulsionante, porque las sales biliares y la lisolecitina introducen los ácidos grasos libres (AGL) en una micela hidrosoluble que será degradada sobre la superficie de las microvellosidades de la mucosa intestinal, y dichos AGL serán capturados por la célula de la mucosa. La mayor parte de la absorción de los lípidos tiene lugar en la mitad proximal del intestino delgado y las sales biliares son reabsorbidas en el yeyuno distal y el ileon (Osorio & Vinazco, 2010).

La inclusión de grasa sobrepasante en la dieta de los sementales bovinos, garantiza el aporte de ácidos grasos esenciales y favorece en el espermatozoide la integridad de la membrana plasmática, motilidad, viabilidad, reducción de las anomalías morfológicas y resistencia a los procesos de criopreservación, así como flexibilidad de la cola del espermatozoide, mejorando la habilidad de la bicapa lipídica a tolerar el estrés del movimiento flagelar y la fluidez necesaria para participar en la fusión de membranas asociada a la fertilización (Samadian *et al.*, 2010; Cheah & Yang, 2011; Gholami *et al.*, 2011).

Adicionalmente, como un dato curioso, los ácidos grasos en la alimentación bovina tienen un beneficio sobre el medio ambiente y la reducción del calentamiento global. Investigaciones científicas reseñan que la liberación de metano por parte de los bovinos es la segunda fuente de gas con efecto invernadero después del dióxido de carbono. Sin embargo, se han logrado reducciones de hasta 18% en la liberación de metano con el uso de dietas ricas en ácidos grasos omega-3 (Sretenovic *et al.*, 2009).

### **Ácidos grasos y su influencia sobre el semen fresco**

Una de las principales funciones del tracto reproductivo del macho bovino es la espermatogénesis, que consiste en la formación del gameto masculino a nivel de los

túbulos seminíferos del testículo, lo cual es un proceso complejo que demanda una balanceada función de todos los sistemas del organismo.

Durante la espermatogénesis, los lípidos cumplen un papel de suma importancia, ya que son un componente básico del semen, teniendo una contribución estructural de la membrana del espermatozoide y actuando a su vez sobre el metabolismo de las células espermáticas y su habilidad de capacitarse, llevando a cabo la reacción del acrosoma y la fertilización del gameto femenino (Kelso *et al.*, 1997; Cheah & Yang, 2011).

Ahluwalia & Colman (1969) describieron la composición lipídica de los espermatozoides del toro, verraco, conejo y el hombre. Ya para esa fecha reseñan la importancia de los lípidos en los espermatozoides mamíferos, los cuales contienen alta proporción de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, existiendo variabilidad específica de especie. En los espermatozoides bovinos así como en la mayoría de los mamíferos, el mayor componente de ácido graso poliinsaturado, aproximadamente 60%, es el ácido docosahexaenoico (22:6 n-3) (Kelso *et al.*, 1997).

Otros autores reportan, que el descenso en los niveles de ácido docosahexaenoico y la relación de ácidos grasos omega 3 y 6 en el espermatozoide, puede estar estrechamente relacionada con la infertilidad y con semen oligo o astenozoospermico (Aksoy *et al.*, 2006). La cantidad de ácido docosahexaenoico en el espermatozoide es proporcional a la motilidad espermática, ya que la mayor porción está concentrada en la cola del espermatozoide. Además, se ha relacionado su posible efecto sobre la envoltura de los receptores unidos a la membrana plasmática y una importante actividad sobre las enzimas asociadas a la comunicación espermatozoide-ovocito, al sistema de segundos mensajeros y a la resistencia de la membrana al estrés físico y químico (Samadian *et al.*, 2010).

El semen de baja calidad va acompañado de bajos niveles de ácido docosahexaenoico en plasma seminal y baja relación de ácidos grasos omega 3 y 6 en espermatozoides. Esto puede ser el resultado de una excesiva ruptura de ácidos grasos, inducida por los altos niveles de especies oxígeno reactivas (Cheah & Yang, 2011). Para el mantenimiento de altas tasas de fertilidad, el toro requiere de la presencia de concentraciones óptimas de ácidos grasos poliinsaturados en asociación con una igualmente óptima capacidad antioxidante (Kelso *et al.*, 1997).

En toros, a medida que avanza la edad hay una reducción significativa de la concentración espermática de los ácidos grasos poliinsaturados, asociado a la reducción del sistema de enzimas antioxidantes en el plasma seminal, originando interés comercial en el uso de dietas con suplementos de aceite de pescado y la inclusión de altas tasas de antioxidantes como la vitamina E, para mejorar la fertilidad (Kelso *et al.*, 1997).

Existen publicaciones que reseñan el efecto de la suplementación con ácidos grasos sobre la calidad del semen en fresco. En tal sentido, Dolatpanah *et al.* (2008) señalan que el alto contenido de ácidos grasos, particularmente el ácido docosahexaenoico en el semen ha mostrado correlación significativa con las características vitales, observándose incremento tanto en el número total de espermatozoides como en el porcentaje de espermatozoides con morfología normal e integridad del acrosoma.

Samadian *et al.* (2010) determinaron que la motilidad progresiva lineal, el número total de espermatozoides en el eyaculado y la concentración espermática en semen ovino está influenciada favorablemente por la suplementación con 3% de aceite de pescado sobre la base de materia seca de la dieta. La suplementación incrementa significativamente la concentración de ácido docosahexaenoico en el semen, acompañado con el aumento de la calidad seminal, lo cual se relaciona con el aumento de la flexibilidad de la membrana espermática, mejorando la habilidad de adaptarse al característico movimiento flagelar del espermatozoide.

En cerdos, la suplementación diaria de 3% de la ración con aceite de pescado, incrementó significativamente el contenido de ácido docosahexaenoico (de 33% a 45% del total de ácidos grasos) en los espermatozoides; a su vez, se observó incremento en la concentración espermática (Maldjian *et al.*, 2005). En bovinos, Gholami *et al.* (2011) señalaron el incremento de la motilidad progresiva y la proporción de espermatozoides rápidos medidos a través del sistema computarizado de evaluación seminal (CASA); a su vez aumentaron los espermatozoides con membrana plasmática íntegra evaluados con el test hiposmótico (HOST), luego de 9 semanas de suplementación con ácidos grasos a toros de la raza Holstein.

Sin embargo, otros estudios señalan que toros de razas lecheras, luego de la suplementación con semilla de linaza como fuente de grasa omega 3 y grano de soya como fuente de grasa omega 6, produjeron semen con mayor concentración (espermatozoides/mL), con diferencia estadística con respecto al tratamiento testigo. Sin embargo, es importante acotar que, el porcentaje de espermatozoides normales, espermatozoides vivos y motilidad masal e individual no presentaron diferencias significativas (Castellanos, 2011).

### Suplementación lipídica y criopreservación del semen

La criopreservación del semen bovino es esencial para su uso más efectivo. Es factible emplearlo en biotecnologías reproductivas como la inseminación artificial y la fertilización *in vitro*; crear bancos de germoplasma con semen de alto valor genético; o transportar material genético valioso de manera fácil, segura y sin límite de distancia.

Sin embargo, no todo es positivo en la criopreservación del semen, ya que el proceso de congelación y descongelación induce efectos detrimentales sobre la ultraestructura espermática, además sobre sus características morfológicas, bioquímicas y funcionales, como son reducción de la motilidad, integridad de la membrana y habilidad para la fertilización (Towhidi & Parks, 2012). El reto es coleccionar espermatozoides lo más resistentes posible y diseñar procedimientos óptimos de criopreservación para que el deterioro producto de las bajas temperaturas no comprometa la viabilidad espermática (Leahy & Gadella, 2011).

Las diferencias existentes entre las especies animales relacionadas con la composición lipídica de la membrana plasmática del espermatozoide, es un factor clave para la congelabilidad del semen (Towhidi & Parks, 2012). Similar opinión es reseñada por Samadian *et al.* (2010), quienes manifiestan que la membrana plasmática es una estructura altamente dinámica que regula el intercambio extracelular, por lo

tanto su composición lipídica es determinante para la motilidad y sensibilidad al frío del espermatozoide.

Durante el proceso de congelación y descongelación ocurre una redistribución de los lípidos, induciendo alteraciones de las interacciones lípido-lípido y lípido-proteína lo cual es vital para el normal funcionamiento de la membrana espermática. La alteración en la estructura normal de la membrana espermática, es una de las razones más importantes por la cual se observa descenso de la calidad del semen después de la criopreservación (Sheikholeslami *et al.*, 2013). Por lo tanto, los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga de la familia omega 3 le proveen mayor resistencia al daño provocado por la formación de cristales de hielo (Maldjian *et al.*, 2005).

Existen publicaciones utilizando diferentes especies animales en las cuales reflejan, al igual que con el semen fresco, que la suplementación con ácidos grasos esenciales influye favorablemente sobre los espermatozoides postcongelación. En búfalos, la suplementación lipídica durante 63 días incrementó tanto la motilidad como el porcentaje de espermatozoides con membrana plasmática íntegra, luego del almacenamiento bajo nitrógeno líquido (Adeel *et al.*, 2009). En carneros donadores de semen, la suplementación con aceite de pescado en la dieta tuvo un impacto positivo sobre la motilidad y viabilidad espermática post criopreservación, así como el incremento significativo de la concentración de testosterona (Esmaili *et al.*, 2014).

En cerdos, Chanapiwat *et al.* (2012) reportaron mejora en parámetros espermáticos postcongelación después de la suplementación con ácidos grasos y L-cisteína, comparándolo con una dieta control. El incremento se observó en motilidad espermática (34,7% y 22,3% respectivamente,  $p < 0,001$ ), viabilidad espermática (45% y 28,1% respectivamente,  $p < 0,05$ ) e integridad del acrosoma (46,9% y 36,2% respectivamente,  $p < 0,05$ ).

Adicionalmente, Buhr *et al.* (2010) reportan que la magnitud de pérdida de motilidad espermática postrefrigeración durante 7 días a 17°C fue más reducida en cerdos que habían sido suplementados con ácidos grasos en la dieta. Se observó que la suplementación lipídica incrementó el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales y descendió el porcentaje de espermatozoides con anomalías de cola. De manera similar, Brinsko *et al.* (2005) obtuvieron en equinos, un incremento tanto en la motilidad total y motilidad progresiva del semen mantenido durante 48 horas en refrigeración, proveniente de caballos que han consumido suplemento rico en ácido docosahexaenoico.

Con la visión de mejorar los parámetros de viabilidad espermática postcongelación, no solo se ha evaluado el consumo de dietas ricas en ácidos grasos esenciales sino también la adición de estos suplementos en el diluyente, encontrándose resultados satisfactorios.

La incorporación de ácidos grasos omega 3 y un antioxidante como el  $\alpha$ -tocopherol (vitamina E) al diluyente utilizado para criopreservación del semen de bovinos de la raza Holstein, mejora la criosobrevivencia del espermatozoide, ya que altera la composición lipídica de la célula, incrementando el porcentaje de ácido docosahexaenoico en el espermatozoide (Nasiri *et al.*, 2012). Similares resultados obtuvieron Towhidi & Parks (2012) al suplementar el diluyente con 10 ng mL<sup>-1</sup> de ácidos grasos omega 3 y

0,4 mM de vitamina E en toros de la raza Pardo Suizo, incrementando 8,8 puntos porcentuales la motilidad progresiva postcongelación.

En la búsqueda de nuevas alternativas, Nalley & Arifiantini (2011) utilizaron diluyente a base de yema de huevo enriquecido con omega 3 y yemas de huevos regulares, obteniendo significativamente un porcentaje mayor de espermatozoide con membrana plasmática intacta postcongelación, al hacer uso de huevos enriquecidos (60,3% y 56,9% respectivamente). Por el contrario, Abavisani *et al.* (2012) y Sheikholeslami *et al.* (2013), no obtuvieron incremento en la motilidad espermática postcongelación, al incorporar ácidos grasos al diluyente.

### **Uso en Venezuela de grasa sobrepasante como suplemento nutricional del semental bovino**

En otras latitudes la utilización de suplementación con ácidos grasos esenciales y su influencia sobre la calidad espermática se ha descrito en cerdos (Chanapiwat *et al.*, 2012), toros (Gholami *et al.*, 2011), machos cabrios (Dolatpanah *et al.*, 2008) y carneros (Esmaeili *et al.*, 2014), entre otras especies.

A nivel nacional, no existen trabajos científicos que reflejen el efecto de la ingesta de grasa sobrepasante sobre el desempeño reproductivo del toro; sin embargo, estas experiencias positivas, desarrolladas a nivel mundial, sirven de base para implementar en condiciones tanto climáticas como de manejo de nuestro país este tipo de suplementación.

En tal sentido, en el Instituto de Reproducción Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Central de Venezuela, se están desarrollando ensayos que permitirán determinar la influencia del consumo de grasa sobrepasante en machos bovinos. Entre los logros preliminares de la investigación, se determinó que el consumo de grasa sobrepasante influye favorablemente sobre el desempeño reproductivo de toros de la raza Brahman. La ingesta de 200g/día del suplemento lipídico durante 90 días mejoró la motilidad individual de los espermatozoides evaluados bajo microscopía óptica. Al comparar los toros no suplementados con los suplementados se evidenció en semen fresco la motilidad individual de 59,97% y 66,12% respectivamente ( $p < 0,05$ ) y post congelación de 31% y 37% respectivamente ( $p < 0,05$ ). La determinación de la motilidad espermática con el sistema computarizado de evaluación seminal (CASA) evidenció que el consumo del suplemento, aumentó el porcentaje de espermatozoides móviles totales (31,22% y 35,85%;  $p < 0,05$ ) y el porcentaje de espermatozoides con velocidad rápida (14,67% y 17,81%;  $p < 0,05$ ). Sin embargo, no hubo diferencia significativa en parámetros como peso corporal, circunferencia escrotal, motilidad masal, concentración espermática y anomalías espermáticas (datos no publicados).

El logro de estos resultados nos genera nuevos desafíos e interrogantes, como son si el consumo de grasa sobrepasante aumenta los niveles de colesterol, triglicéridos y testosterona sanguínea, así como la caracterización lipídica del plasma seminal y de los espermatozoides, para determinar si los nutrientes consumidos por los toros es incorporado en las células espermáticas. Finalmente, nos planteamos el desafío de desarrollar un diluyente para la criopreservación de semen bovino enriquecido con

ácidos grasos omega 3 y 6, lo cual permitiría obtener espermatozoides con mayor capacidad para soportar la criopreservación, propiciando semen de mejor calidad para ser utilizado en la inseminación artificial.

## CONCLUSIONES

La suplementación del macho bovino con grasa sobrepasante proporciona, además del efecto calórico, la materia prima necesaria para la formación y desempeño adecuado del espermatozoide, a su vez el estímulo positivo a los mecanismos hormonales involucrados en la reproducción. Este efecto se debe al aporte de ácidos grasos esenciales diseñados para ser insolubles en el rumen y una vez que llegan al abomaso son hidrolizados, logrando ser absorbidos a nivel de intestino.

Aunque en este campo de la Nutrición-Reproducción existen pocos logros en el país, representa un área de investigación con múltiples desafíos, ya que direccionar nuevas estrategias nutricionales que incrementen el potencial reproductivo del semental, se reflejará en mayor porcentaje de preñez y por consiguiente mayor cantidad de kilos de carne y litros de leche que beneficiará el consumo de proteína por la población humana nacional.

## AGRADECIMIENTO

El estudio en Venezuela de la grasa sobrepasante y su efecto sobre el macho bovino es impulsado por un valioso equipo de trabajo, conformado por los Profesores Thaís del Valle Díaz, Oscar Vera, Angélica Bethencourt, Ricardo Bethencourt, Rolando Hernández, Gonzalo Martínez, Ana Zuley Ruiz, Orlando Sojo y el apoyo del personal de la E.E. La Cumaca-UCV. Además del financiamiento recibido del CDCH-UCV (PG-11-8064-2011), el FONACIT (No201400054) y las empresas Nutri-básicos de Venezuela C.A. y Nutriservi C.A.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abavisani A, Arshami J, Sheikholeslami M, Azizzadeh M. 2012. The effects of omega-3 fatty acids addition in sperm extenders on the quality of frozen bovine semen. *Reprod Dom Anim* 47: 446.
- Adeel M, Ijaz A, Aleem M, Rehman H, Yousaf M, Jabbar M. 2009. Improvement of liquid and frozen-thawed semen quality of Nili-Ravi buffalo bulls (*Bubalus bubalis*) through supplementation of fat. *Theriogenology* 71: 1220.
- Ahluwalia B, Colman T. 1969. Fatty acid composition of lipids of bull, boar, rabbit and human semen. *J Reprod Fertil* 18: 431.
- Aksoy Y, Aksoy H, Altinkaynak K, Aydin H, Ozkan A. 2006. Sperm fatty acid composition in subfertile men. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 75: 75.
- Argov-Argaman N, Mahgrefthe K, Zeron Y, Roth Z. 2013. Variation in lipid profiles within semen compartments – the bovine model of aging. *Theriogenology* 80: 712-721.
- Argov N, Sklan D, Zeron Y, Roth Z. 2007. Association between seasonal changes in fatty-acid composition, expression of VLDL receptor and bovine sperm quality. *Theriogenology* 67: 878.

- Brinsko S, Varner D, Love C, Blanchard T, Day B, Wilson M. 2005. Effect of feeding a DHA-enriched nutraceutical on the quality of fresh, cooled and frozen stallion semen. *Theriogenology* 63: 1519.
- Buhr M, Hickey K, Merckies K, Pettitt M, Radomil L. 2010. The effect of dietary flaxseed on fresh and stored boar sperm parameters. *Biol Reprod (Suppl.)*: 159 (Abstract).
- Castellanos Á. 2011. Suplementación alimenticia con ácidos grasos omega 3 y omega 6 sobrepasantes y su efecto en la calidad del semen bovino. *Rev Cien Anim* 4: 59.
- Chanapiwat P, Kaeoket K, Tummaruk P. 2012. Improvement of the frozen boar semen quality by docosahexaenoic acid (DHA) and L-cysteine supplementation. *Afri J Biotech* 11: 3697.
- Cheah Y, Yang W. 2011. Functions of essential nutrition for high quality spermatogenesis. *Adv Biosc Biotech* 2: 182.
- Coulter G, Carruthers T, Amann R, Kozub G. 1987. Testicular development, daily sperm production and epididymal sperm reserves in 15-month-old Angus Hereford bulls: Effects of bull strain plus dietary energy. *J Anim Sci* 64: 254.
- Dolatpanah M, Towhidi A, Farshad A, Rashidi A, Rezayazdi A. 2008. Effects of dietary fish oil on semen quality of goats. *Asi-Austr J Anim Sci* 21: 29.
- Esmaceli V, Shahverdi A, Alizadeh A, Alipour H, Chehrazhi M. 2014. Saturated, omega-6 and omega-3 dietary fatty acid effects on the characteristics of fresh, frozen-thawed semen and blood parameters in rams. *Andrologia* 46: 42.
- Gholami H, Chamani M, Towhidi A, Fazeli M. 2011. Improvement of semen quality in Holstein bulls during heat stress by dietary supplementation of omega-3 fatty acids. *Int J Fertil Steril* 4: 160.
- Gulliver C, Friend M, King B, Clayton E. 2012. The role of omega-3 polyunsaturated fatty acids in reproduction of sheep and cattle. *Anim Reprod Sci* 131: 9.
- Kelso K, Redpath A, Noble R, Speake B. 1997. Lipid and antioxidant changes in spermatozoa and seminal plasma throughout the reproductive period of bull. *J Reprod Fertil* 109: 1.
- Leahy T, Gadella B. 2011. Sperm surface changes and physiological consequences induced by sperm handling and storage. *Reprod* 142: 759.
- Maldjian A, Pizzi F, Gliozzi T, Cerolini S, Penny P, Noble R. 2005. Changes in sperm quality and lipid composition during cryopreservation of boar semen. *Theriogenology* 63: 411.
- Nalley W, Arifiantini R. 2011. The viability of local ram semen in tris buffer with three different egg yolks. *Anim Prod* 13: 39.
- Nasiri A, Towhidi A, Zeinoaldini S. 2012. Combined effect of DHA and  $\alpha$ -tocopherol supplementation during bull semen cryopreservation on sperm characteristics and fatty acid composition. *Andrologia* 44: 550.
- Osorio J, Vinazco J. 2010. El metabolismo lipídico bovino y su relación con la dieta, condición corporal, estado productivo y patologías asociadas. *Biosalud* 9: 56.
- Rugeles C, Almanza R, Linares J, Luna J, Castaño F, Vergara O. 2012. Efecto de los niveles de proteína y energía de la dieta sobre la calidad seminal y los perfiles metabólicos de toros Brahman. *Rev Científ FCV-LUZ*. XXII: 163.
- Samadian F, Towhidi A, Rezayazdi K, Bahreini M. 2010. Effects of dietary n-3 fatty acids on characteristics and lipid composition of ovine sperm. *Animal* 4: 2017.

Sheikholeslami M, Arshami J, Naserian A, Abavisani A. 2013. The effects of addition of omega-3,6,9 fatty acids on the quality of bovine chilled and frozen-thawed sperm. *Open Vet J* 3: 47-52.

Sretenovic L, Pantelic V, Novakovic Z. 2009. Importance of utilization of omega-3 fatty acids in human and animal nutrition. *Biotech Anim Husbandry*. 25: 439-449.

Towhidi A, Parks J. 2012. Effect of n-3 fatty acids and  $\alpha$ -tocopherol on post-thaw parameters and fatty acid composition of bovine sperm. *J Assis Reprod Gen* 29: 1051-1056.

Wathes C, Abayasekara R, Aitken J. 2007. Polyunsaturated fatty acids in male and female reproduction. *Biol Reprod* 77: 190-201.