UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

FACULTAD AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TÍTULO:

"EFECTO DE DIFERENTES NIVELES DE OMEGAS-3 SOBRE LA PROGENIE DE RATONES (*Mus musculus*) EN TRES CICLOS REPRODUCTIVOS"

TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

AUTORA:

Mónica Valeria Montero Duque

DIRECTOR:

Dr. Rodrigo Medardo Abad Guamán Ph.D.

LOJA – ECUADOR

2017

CERTIFICACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS

Dr. Rodrigo Medardo Abad Guamán Ph.D.

DIRECTOR DE TESIS

CERTIFICA:

Que el presente trabajo de investigación titulado, **"EFECTO DE DIFERENTES NIVELES DE OMEGAS-3 SOBRE LA PROGENIE DE RATONES (Mus musculus) EN TRES CICLOS REPRODUCTIVOS"**, realizado por el Srta. Egresada MÓNICA VALERIA MONTERO DUQUE previo a la obtención del título de **MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA**, ha concluido dentro del cronograma aprobado y autorizado con el trámite de graduación.

Loja, 27 de enero de 2016

Dr. Rodrigo Medardo Abad Guamán Ph.D.

DIRECTOR DE TESIS

CERTIFICACION DEL TRIBUNAL DE GRADO

Que luego de haber procedido a la calificación de Tesis escrita del trabajo de investigación titulado **"EFECTO DE DIFERENTES NIVELES DE OMEGAS-3 SOBRE LA PROGENIE DE RATONES (*Mus musculus*) EN TRES CICLOS REPRODUCTIVOS"**, de la Srta. Egresada MÓNICA VALERIA MONTERO DUQUE, y al haber constatado que se ha incluido en el documento las observaciones y sugerencias realizadas por los miembros del tribunal autorizamos continuar con los trámites como requisito previo a la obtención del título de: MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA.

APROBADO Loja, 30 de marzo de 2017

Dr. Segundo German Barragan Fierro Mg.Sc.
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Dr. Édgar Enrique Benítez González Ph.D.
VOCAL DEL TRIBUNAL

Dr. Dubal Antonio Jumbo Jimbo Mg.Sc.
VOCAL DEL TRIBUNAL

AUTORIA

Yo, Mónica Valeria Montero Duque, declaro ser autora del presente trabajo de tesis y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos o acciones legales, por el contenido de la misma.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación de mi tesis en el Repositorio Institucional-Biblioteca Virtual.

Autora: Mónica Valeria Montero Duque

Firma: .....

Cédula: 1104116353

Fecha: Loja, 04 de abril de 2017

CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS POR PARTE DEL AUTOR PARA LA CONSULTA, REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL Y PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DEL TEXTO COMPLETO

Yo, **MÓNICA VALERIA MONTERO DUQUE,** declaro ser autor de la tesis titulada **"EFECTO DE DIFERENTES NIVELES DE OMEGAS-3 SOBRE LA PROGENIE DE RATONES *(Mus musculus)* EN TRES CICLOS REPRODUCTIVOS",** como requisito para optar al grado de Médica Veterinaria y Zootecnista, autorizo al Sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos, muestre al mundo la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Digital Institucional:

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el RDI, en las redes de información del país y del exterior, con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia de la tesis que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los 04 días del mes de Abril de dos mil diecisiete firma el autor.

Firma: _____

Autora: Mónica Valeria Montero Duque

Número de cédula: 1104116353

Dirección: Loja, Avda. Chile y España

Correo electrónico: cat12vale@hotmail.com

Teléfono: **Celular:** 0959015116

DATOS COMPLEMENTARIOS:

DIRECTOR DE TESIS: Dr. Rodrigo Medardo Abad Guamán Ph.D.

TRIBUNAL DE GRADO:

PRESIDENTE: Dr. Segundo German Barragan Fierro Mg.Sc.

VOCAL: Dr. Édgar Enrique Benítez González Ph.D.

VOCAL: Dr. Dubal Antonio Jumbo Jimbo Mg.Sc.

AGRADECIMIENTO

Primeramente me gustaría agradecerle a Dios por bendecirme y permitirme llegar a este sueño tan anhelado.

Dejo constancia de mi imperecedera gratitud a la Universidad Nacional de Loja, a la Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables y agradezco a la Carrera de Medicina Veterinaria Zootecnia por haberme aceptado ser parte de ella y abierto las puertas de su seno científico y llegar a ser profesional.

Agradezco a mi director de tesis al Dr. Rodrigo Abad por haberme brindado la oportunidad de recurrir a su capacidad y conocimiento científico, así como también haberme tenido toda la paciencia del mundo para guiarme durante todo el desarrollo de la Tesis y a la Dra. Roció Herrera por su acertada orientación académica y profesional; así como también a los diferentes docentes que han aportado con un granito de arena a mi formación, su apoyo y sobre todo su amistad.

Son muchas las personas que han formado parte de mi vida profesional a las que me encantaría agradecerles su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía en los momentos más difíciles de mi vida. Algunas están aquí conmigo y otras en mis recuerdos y en mi corazón, sin importar en donde estén quiero darles las gracias por formar parte de mí, por todo lo que me han brindado y por todas sus bendiciones.

Mónica Valeria Montero Duque

DEDICATORIA

Dedico esta investigación a mi Madre, el gran amor de mi vida, Teresa Duque Pasquel; quien ha sido el pilar fundamental, siempre estuvo a mi lado extendiéndome su mano amiga y a cada instante una palabra de aliento para llegar a culminar mi profesión.

A mis hermanas Jeaneth y Maryurie, por su apoyo moral quienes han vivido de cerca los distintos procesos de mi vida tanto en los momentos felices y tristes que todo ser humano experimenta en el camino a seguir como un destino.

Y a dos personas que forman parte de mi vida, que son muy especiales; Carlos Benitez e Imelda Ruiz, por brindarme su apoyo incondicional.

Mónica Valeria

ÍNDICE GENERAL

CONTENIDO **PÁG.**

CERTIFICACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS.....ii

CERTIFICACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO.....iii

AUTORIA.....iv

CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS.....v

AGRADECIMIENTO vi

DEDICATORIA vii

ÍNDICE GENERAL..... viii

ÍNDICE DE CUADROS xi

ÍNDICE DE FIGURAS xii

ÍNDICE DE FOTOS..... xiii

RESUMEN xv

ABSTRACT xvi

1. INTRODUCCIÓN..... 1

2. REVISIÓN DE LITERATURA 3

2.1. BIOLOGÍA DEL RATÓN 3

2.2. TAXONÓMICA DEL RATÓN..... 3

2.3. PATRÓN REPRODUCTIVO EN EL RATÓN..... 4

2.3.1. Ciclo Estral 4

2.3.2. Sistemas de Apareo 5

2.3.3. Preñez o Gestación 6

2.3.4. Amamantamiento 6

2.3.5. Destete 7

2.3.6. Consideraciones Generales para la Alimentación y la Formulación de Dietas 7

2.3.7. Microambiente y Macroambiente del Ratón 7

2.4. ÁCIDOS GRASOS 10

2.4.1. Clasificación de los Ácidos Grasos..... 11

2.4.2. Ácidos Grasos Poliinsaturados (PUFAs) 12

2.4.3. Mecanismos de Acción de los Ácidos Grasos Poliinsaturados (PUFAs) 13

2.5. OMEGA 3 13

2.5.1. Mecanismo de Acción de Los Omega-3..... 14

2.5.2. Metabolismo de los Ácidos Grasos Omega-6 y Omega-3 15

2.5.3. Efecto de la Suplementación de Omega-3 en la Progenie..... 16

2.5.4. Efecto de omegas-3 sobre la determinación del sexo 17

2.5.5. Necesidades nutricionales de los animales de laboratorio: requerimientos de nutrientes del ratón..... 18

2.5.6. Fuentes de Omega-3 21

2.5.6.1. Chía *(Salvia hispanica L.)* 21

2.5.6.2. Clasificación Taxonómica de la Chía 21

2.5.6.3. Importancia de la Chía..... 22

2.5.6.4. Composición de la Chía..... 23

2.5.7. Fuentes de Omega- 9 24

2.5.7.1. Aceite de oliva *(Olea europea)* 24

2.5.7.2. Clasificación Taxonómica 25

2.5.7.3. Composición 26

2.5.7.4. Valoración nutricional..... 26

2.6. TRABAJOS RELACIONADOS.....27

3. METODOLOGÍA 29

3.1. MATERIALES 29
3.1.1. Materiales de Campo 29
3.1.2. Materiales de Oficina 29
3.1.3. Insumos 29
3.2. UBICACIÓN 29
3.3. DESCRIPCIÓN Y ADECUACIÓN DE INSTALACIONES 30
3.4. DESCRIPCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LAS UNIDADES EXPERIMENTALES 30
3.5. DISEÑO EXPERIMENTAL 31
3.6. DESCRIPCIÓN DE LOS TRATAMIENTOS 31
3.7. CONFORMACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE GRUPOS EXPERIMENTALES 32
3.8. MANEJO 32
3.8.1. Manejo de los Animales 32
3.8.2. Manejo Reproductivo de los Animales 33
3.9. TOMA Y REGISTRO DE DATOS 33
3.9.1. Consumo de alimento 33
3.9.2. Incremento de peso 33
3.9.3. Peso de la camada al destete 33
3.9.4. Tamaño de la camada al destete 33
3.9.5. Eficiencia alimentaria 34
3.9.6. Sexo de la camada 34
3.9.7. Supervivencia de la camada 34
3.10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO 34
4. RESULTADOS 35
4.1. CONSUMO MEDIO DIARIO CMD(g) 35

4.2. GANANCIA MEDIA DIARIA GMD(g) 36

4.3. EFICIENCIA ALIMENTARIA 38

4.4. PARÁMETROS REPRODUCTIVOS 39

5. DISCUSIÓN 43

5.1. CONSUMO DE ALIMENTO, INCREMENTO DE PESO Y EFICIENCIA ALIMENTARIA 43

5.2. EFECTO DE OMEGA-3 SOBRE SEXO Y TAMAÑO DE CAMADA AL DESTETE 44

5.3. INDICES DE SUPERVIVENCIA Y PESO DE CRIAS AL DESTETE 45

6. CONCLUSIONES 47

7. RECOMENDACIONES 48

8. BIBLIOGRAFÍA 49

9. ANEXOS 56

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO **PÁG.**

Cuadro 1: Clasificación taxonómica del ratón (*Mus musculus*).....3
Cuadro 2: Fases del ciclo estral.....4
Cuadro 3: Requisitos nutricionales estimados de ratones 19
Cuadro 4: Clasificación taxonómica de la chía 21
Cuadro 5: Contenido de minerales y vitaminas en semillas de chía. 23
Cuadro 6: Clasificación taxonómica de la oliva (olea europaea).....25
Cuadro 7: Composición de la dieta comercial para los ratones. 31
Cuadro 8: Consumo medio diario de los ratones hembras en estudio (g). 35
Cuadro 9: Ganancia media diaria de los ratones hembras en estudio (g) .37
Cuadro 10: Eficiencia alimenticia de los ratones hembras en estudio. 38
Cuadro 11: Parámetros de las crías de animales alimentados con diferentes niveles de chía 40

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURAS **PÁG.**

Figura 1: Bioconversión y efectos metabólicos de eicosanoides derivados del ácido araquidónico (AA) y ácido eicosapentaenoico (EPA) (Herrera et al., 2006). 15
Figura 2: Metabolización de ácidos grasos poliinsaturados omega-6 y omega-3. Vías de desaturación y elongación de los ácidos linoleico y α-linólénico (Valenzuela et al.,2011). 16
Figura 3: Planta y semilla de chía (*Salvia hispanica L*.) (Ayerza y Coates, 2006). 22
Figura 4: Aceite de oliva (Oteros, 2014). 24
Figura 5: Consumo medio diario de los ratones hembras en estudio (g) 36
Figura 6: Ganancia media diaria de los ratones hembras en estudio (g).....37
Figura 7: Eficiencia alimenticia de los ratones hembras en estudio. 39
Figura 8: Tamaño de camada de los ratones. 41
Figura 9: Sexo de las camadas.....42

ÍNDICE DE FOTOS

FOTOS **PÁG.**

Foto 1: Desinfección de los equipos 58
Foto 2: Colocación de cama 58
Foto 3: Manejo de los ratones.....58
Foto 4: Pesaje de alimento 58
Foto 5: Conformación de los grupos experimentales 58
Foto 6: Suministro de la dieta experimental 58
Foto 7: Destete de la camada 59
Foto 8: Peso de la camada 59
Foto 9: Identificación del sexo de las camadas.....59

“EFECTO DE DIFERENTES NIVELES DE OMEGAS-3 SOBRE LA PROGENIE DE RATONES (Mus musculus) EN TRES CICLOS REPRODUCTIVOS”

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se desarrolló con el propósito de determinar el efecto de diferentes niveles de omegas-3 sobre la progenie de ratones (Mus musculus) en tres ciclos reproductivos; para el efecto se definieron tres tratamientos el primero con la adición del 2% de aceite de oliva y 3% de aceite de chía, el segundo con la adición de 5% de chía y el testigo con el 5% de aceite de oliva. Se utilizaron 15 ratones hembras por tratamiento de la cepa CDR-51 con un peso promedio de 36 gr; el suministro del alimento fue en la mañana y por la tarde; se utilizó un diseño completamente aleatorizado con tres tratamientos, quince repeticiones. Las variables de estudio fueron el consumo de alimento, incremento de peso, eficiencia alimenticia, peso de la camada al destete, tamaño de la camada al destete, sexo de la camada y supervivencia de la camada. Para el análisis estadístico se utilizó un modelo mixto de medidas repetidas. Los resultados obtenidos son que el en tamaño de camada en control es del 12% y en supervivencia es de 8,40%, el peso de la camada como media de los grupos de tratamientos tenemos un 50,6% y con respeto al número de hembras obtenidas en los tratamientos el grupo chía al 5% tuvo un mayor número de hembras con un 47,9 %. En conclusión los cambios en la dieta de perfil de ácidos grasos pueden modificar el tamaño y sexo de las camadas.

PALABRAS CLAVES: Chía, oliva, sexo, camada, supervivencia.

ABSTRACT

This research study was carried out with the purpose of determine the effect of different levels of Omega-3 on the progeny of mice *(Mus musculus)* in three reproductive cycles; to do this, three treatments were defined; the first with the addition of 2% of olive oil and 3% Chia oil, the second with the addition of 5% of chia and the witness with 5% of olive oil. Furthermore, 15 female–mice were used by treatment of the strain CDR-51 with an average weight of 36 g. The food supply was in the morning and in the afternoon; a completely randomized design was used with three treatments, fifteen repetitions. Besides, the variables of this study were the consumption of food, weight, food efficiency, weight of litter at weaning, the litter size at weaning, sex of the litter and litter survival. A mixed model of repeated measurements was used for statistical analysis. The results gotten are the following: the litter on control size is 12% and survival is 8.40%, the weight of the litter as media groups of treatments have a 50.6% and with respect to the number of females obtained in the treatments the chia Group 5% had a greater number of females with 47.9%. In conclusion, changes in the diet of fatty acid profile can modify the size and sex of the litters.

Key words: Chia, olive, sex, litter, survival.

1. INTRODUCCIÓN

La nutrición y alimentación es uno de los principales factores que influyen en la función y eficiencia reproductiva (Martin et al., 2004), ya que afecta directamente aspectos de la fisiología y la eficiencia reproductiva en la hembra (Sartori, 2009).Varios estudios demuestran el efecto de los ácidos grasos omegas-3 sobre los parámetros reproductivos en diferentes especies de animales como conejos (Gliozzi et al., 2009). La ratona cuando se encuentra gestante y le falta algún nutriente esto va a influir sobre el desarrollo del feto o de la placenta, por lo que podría desarrollar enfermedades metabólicas y cardiovasculares en la vida adulta y afectar la proporción de sexos (McMillen y Robinson, 2005).

Los animales pueden sintetizar diferentes ácidos grasos que desempeñan una variedad de funciones y dependen de su alimentación para obtener estos ácidos grasos esenciales. Los animales que se alimentan en la naturaleza tienen en su alimento un buen equilibrio de omega 3: omega 6, pero en animales domésticos, debido al tipo de alimentación industrial, se acumulan omega 6, siendo los omega 3 escasos en este tipo de carnes (además los ácidos grasos no son respetados durante el proceso de elaboración a partir de las materias primas (procesos industriales de extracción de los aceites). Si se da este desequilibrio en animales de producción, este desequilibrio se transmite a la alimentación humana (Ortiz, 2010).

La gestación y lactancia imponen necesidades especiales para el par madre/feto-lactante. La placenta transfiere principalmente ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga de la serie omega-3 y omega-6 (AGPICL) fisiológicamente importantes (Jones et al., 2014) y durante las primeras etapas de vida la leche materna constituye la fuente exclusiva del ácido docosahexaenoico (C22:6 omega-3, DHA), de especial importancia para lograr un óptimo desarrollo neurológico puesto que el feto y el neonato tienen limitada capacidad para sintetizarlo (Jensen y Lapillonne, 2009).

Al restringirles el alimento, también se les está restringiendo el consumo de ácidos grasos esenciales, lo cual ha sido considerado como la causa de una

baja proporción de machos y pequeños tamaños de camada en roedores (Lane 1973, Moriya y Hiroshige 1978, Zamiri 1978, Meikle y Drickamer 1986, Pratt y Lisk 1989, Meikle 1995, Krackow 1997).

La chía (*Salvia hispanica L.)* es una planta herbácea cuyas semillas constituyen una excelente fuente de fibra y antioxidantes, calcio, proteínas y ácidos grasos omega 3 de origen vegetal; sin embargo su uso en la alimentación es muy limitado debido a la falta de resultados y experiencias.

En base a esto, los objetivos planteados, en el presente trabajo fueron:

OBJETIVO GENERAL:

Evaluar el efecto de diferentes niveles de omegas-3 sobre la progenie de ratones de laboratorio en tres ciclos reproductivos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Evaluar el efecto de diferentes niveles de omega 3 sobre el sexo y tamaño de la camada en ratones.
- Determinar los índices de supervivencia y peso de crías al destete de los ratones.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. BIOLOGÍA DEL RATÓN

El ratón doméstico se adapta a una gran variedad de condiciones ambientales, prefieren lugares más secos que húmedos y tiene hábitos nocturnos, sociales y su comportamiento está influenciado por feromonas, su sentido de la audición responde a un amplio rango de secuencias ultrasónicas, el sentido del olfato es muy desarrollado, la visión es muy pobre, y por lo tanto no pueden distinguir los colores. Poseen las Glándulas Harderianas en la órbita del ojo, cuando el ratón está estresado excreta una sustancia amarronada “porfirina” en la zona periocular (Fuentes et al., 2008).

Son muy dóciles a excepción de algunas cepas exocriadas que mantienen su agresividad, muestra de ello es el canibalismo de los ratones jóvenes puede ser un serio problema en colonias endocriadas. El manejo de los recién nacidos debe ser muy cuidadoso ya que son muy susceptibles a cambios ambientales y pueden afectar la temperatura corporal del animal y modificar su fisiología (Fuentes et al., 2008).

El tamaño del ratón adulto es de 12 a 15 cm. desde la punta de la nariz a la punta de la cola, el largo de la cola es igual al largo del cuerpo y con un peso aproximado de 30g. Las crías al nacer tienen un peso aproximado de 1 a 2 g y gana rápidamente peso durante la lactación. Tienen una vida útil de 10 a 12 meses y se obtiene de ocho a diez camadas (Fuentes et al., 2008).

2.2. TAXONÓMICA DEL RATÓN

Cuadro 1: Clasificación Taxonómica del ratón *(Mus musculus)*

Clase	Mammalia
Orden	Rodentia
Familia	Muridae
Género	Mus
Especie	M. musculus

Fuente: Cedeño, 2013

2.3. PATRÓN REPRODUCTIVO EN EL RATÓN

2.3.1. Ciclo Estral

La duración del ciclo varia de 4 a 6 días en animales mantenidos con 14 hs luz/ 10 oscuridad (se puede ver influenciado por el medio ambiente a través del eje hipotálamo-hipófisis). El ciclo se divide en proestro, estro, metaestro y diestro. El celo dura aproximadamente 12 hs.

El proestro y estro culminan en la ovulación y constituyen la fase de liberación de estrógenos, mientras que el metaestro y el diestro (o pseudopreñez o preñez) conforman la fase progestacional o luteal). En las hembras mantenidas con ciclos lumínicos 14/10 el pico ovulatorio de LH se produce entre las 4 y las 5 de la tarde del día del proestro y la ovulación 12 horas después, entre la 1 y las 8 de la mañana del día del estro, con marcada tendencia a localizarse en la mitad del periodo de oscuridad. Los óvulos liberados en cada ciclo son transportados a la porción proximal o ampolla del oviducto donde tiene lugar la fecundación. Los mismos mantienen su fertilidad durante 10 a 15 hs (Galassi y Gullace, 2014).

Cuadro 2: Fases del Ciclo Estral

Fases	Orificio Vaginal	Frotis vaginal
Proestro	Color rojo–rosáceo, orificio húmedo y dilatado, hendidura longitudinal desarrollada.	Células epiteliales nucleadas, leucocitos ocasionales, células epiteliales cornificadas.
Estro	Edema y hendidura longitudinal prominente, orificio dilatado, mayor coloración que en proestro.	Abundantes células cornificadas, escasas células epiteliales nucleadas
Metaestro	Pequeño edema, seco, palidez, pueden observarse restos de células blancas.	Células cornificadas, numerosos leucocitos, escasas células epiteliales nucleadas.

Diestro	Orificio contraído, color pálido y húmedo.	Moco, menos células que en otros estadios, predominantemente leucocitos con células epiteliales nucleadas ocasionales.

Fuente: (Galassi y Gullace, 2014).

2.3.2. Sistemas de Apareo

Los sistemas de apareo se clasifican de dos maneras diferentes:

a) Según el número de animales utilizados (Monogámicos o Poligámicos)
b) Según el tiempo de permanencia (Permanente o Temporales)

Los apareamientos monogámicos consisten en el aislamiento de un macho y una hembra a lo largo de su vida reproductiva, equivalente a un año o a una cantidad de partos que oscila entre los cinco y los ocho. La pareja de reproductores va a permanecer junta procreando, con un promedio de ocho a diez crías por camada (Galassi y Gullace, 2014).

Apareo poligámico consiste en aparear un macho con dos o más hembras. A su vez estos grupos de apareo pueden mantenerse fijos durante toda la vida reproductiva o pueden deshacerse y rearmarse. Apareo permanente los animales permanecen juntos durante toda su vida reproductiva (Galassi y Gullace, 2014).

Apareo manual o temporario es cuando los animales son separados después de la copula y según las especies puede ser después de detectada la preñez. Tiene por ventaja el mejor aprovechamiento de los machos y de las hembras reproductoras. Y el registro de las fechas exactas de los servicios, pero tiende a ser caro y poco factible de utilizar en las especies más comunes de laboratorio (rata - ratón) (Galassi y Gullace, 2014).

2.3.3. Preñez o Gestación

La duración de la gestación es de 19 a 20 días según la cepa. La duración de la preñez está muy relacionada con el tamaño de la masa fetal y no tanto con la cantidad de crías implantadas. La gestación es más corta cuando se trata de camada híbridas que cuando son cepas puras, lo que probablemente está en relación con las diferencias antigénicas entre la madre y los fetos (Galassi y Gullace, 2014).

En sistemas de apareamiento monogámico permanente, es habitual que se aproveche el celo posparto que aparece entre 16 y 24 horas después del mismo. La fertilidad es menor en este apareamiento que en otro correspondiente a un ciclo normal. La placenta es discoidea y hemocorial (Galassi y Gullace, 2014).

Al nacer el ratón pesa entre uno y dos gramos, nacen con los ojos y oídos cerrados, sin pelos y son muy activos. Al tercer día comienza a observarse el desarrollo del pelaje, llegando a cubrirse totalmente desde los siete a diez días. A los 12 días empiezan abrir los ojos y el conducto auditivo externo, entre los días 13 y 14 inician a ingerir alimento sólido y agua del bebedero (Fuentes et al., 2008).

2.3.4. Amamantamiento

La lactancia dura entre 19 y 21 días y las crías comparten de modo “democrático” las mamas disponibles (cinco pares: tres torácicas y dos abdominales). No es raro observar que dos padres alternen sus servicios de cuidado y amamantamiento en un nido común. En particular, la leche de estos roedores es muy rica en grasas y con porcentajes más bajos de agua que la leche de otros mamíferos. Durante los primeros días, en cuanto la madre abandona el nido para alimentarse, las crías comienzan a enfriarse ya que –sin pelaje e inmaduros– no son capaces de regular la temperatura e inmediatamente comienzan a llamar usando sonidos ultrasónicos (Galassi y Gullace, 2014).

A partir del día 14 de vida, las crías, ya con pelaje completo y los ojos abiertos, abandonan el nido y comienzan a explorar, mientras la madre y el padre los toman por la piel del cuello para devolverlos al nido. Alrededor de los 16 días de vida, el amamantamiento se convierte en facultativo y las crías comienzan a alimentarse por sí mismas, ingiriendo alimentos sólidos por primera vez (Galassi y Gullace, 2014).

2.3.5. Destete

Generalmente se desteta a los 21 días de edad con un peso de aproximadamente 11 a 14 gramos (Fuentes et al., 2008).

2.3.6. Consideraciones Generales para la Alimentación y la Formulación de Dietas

El estado nutricional de los animales de laboratorio influye en su capacidad para alcanzar su potencial genético de crecimiento, la reproducción y la longevidad y para responder a los patógenos y otros problemas ambientales. Una dieta equilibrada es importante tanto para el bienestar de los animales de laboratorio y para asegurar que los resultados experimentales no están sesgados por factores nutricionales no deseados (Cedeño, 2013).

Los animales de laboratorio requieren alrededor de 50 nutrientes en la dieta adecuada concentración. Palatabilidad de los alimentos y la ingesta, la absorción de nutrientes y la utilización y excreción puede verse afectada por las características físico-químicas de los alimentos, tales como la forma física, las propiedades sensoriales, compuestos naturales o anti-nutrientes, refractarios, los contaminantes químicos, y las condiciones de almacenamiento. Muchos factores biológicos también influyen en los requerimientos de nutrientes (Cedeño, 2013).

2.3.7. Microambiente y Macroambiente del Ratón

A) Microambiente

Es el ambiente físico que rodea al ratón, llamado confinamiento o encierro primario, está limitado por el perímetro de la jaula o caja, cama, alimento y

agua de bebida; deben contribuir a la salud de los animales, y evitarles todo estrés, por lo que deberá asignársele, a cada uno, un espacio adecuado que le permita movimientos y adopciones de posturas normales, preservando a su vez las mínimas condiciones de higiene y de protección contra insectos, roedores y otras plagas (Fuentes et al., 2008).

- **Caja o jaula**

Los ratones se alojan en cajas o jaulas diseñadas para facilitar su bienestar, pueden ser de metal o de plástico (polipropileno, policarbonato, poliestireno y polysulfano), provistas de tapas de acero inoxidable con o sin filtro. La altura de las paredes de la caja no debe ser menor de 12,7 cm.

Debe tener las siguientes características:

- Proporcionar espacio adecuado, ser cerrado, seguro y protegerlo de las amenazas externas.
- Ser adecuado en ventilación.
- Ser resistente al lavado, desinfección y esterilización frecuente.
- Permitir la observación del animal.
- Tener pisos y paredes fáciles de limpiar (superficies lisa) y con tapa removible de rejas o perforada.
- Mantenerse en buenas condiciones de uso.
- Facilitar el acceso de los animales al agua y alimento.
- No presentar bordes cortantes o proyecciones que puedan causar lesiones (Fuentes et al., 2008).

B) Macroambiente

Es el espacio inmediato al microambiente y es la sala de alojamiento en su ámbito general. La alteración de los factores del macroambiente producirá cambios en el modelo animal y con ello, la modificación del tipo de respuesta, y aumento de la variabilidad de los resultados entre o dentro de los laboratorios de experimentación (Fuentes et al., 2008).

- **Aire y ventilación**

Los ambientes destinados a la producción de animales, en su interior, deben poseer ventilación con presión positiva de aire respecto a los pasillos o áreas exteriores, manteniendo las gradientes de presión, de tal forma que se evita el ingreso de patógenos desde el exterior.

La ventilación es importante para controlar la humedad, calor, gases tóxicos. Se debe generar entre 15 a 20 recambios de aire / hora. Los sistemas de aire acondicionado o ventilación no podrán ser compartidos con otras áreas, serán exclusivos para el sector bioterio y con factores controlados de temperatura y humedad (Fuentes et al., 2008).

- **Temperatura y humedad relativa**

Las exigencias de temperatura para ratones son de 20 a 25 °C y la humedad relativa ambiental entre 40 y 70%. Las condiciones ambientales en que se crían y experimentan los animales influyen decisivamente en las respuestas a los diferentes tratamientos. Si se requiere respuestas estandarizadas, las condiciones en que se mantienen los animales deben ser fijas (Fuentes et al., 2008).

- **Intensidad de luz y tipo de iluminación**

Los ambientes de crianza deben contar con la luz artificial, provista de lámparas fluorescentes tipo luz día, con incidencia oblicua, con una iluminación máxima de 323 lux a un metro del piso; de forma tal, que todas las jaulas, independientemente de su ubicación, reciban intensidades similares de luz.

La iluminación debe distribuirse adecuadamente a través de la sala de alojamiento y ser lo suficiente para las prácticas de mantenimiento, inspección y bienestar de estos, sin causarles signos clínicos a los animales. La iluminación es importante para la regulación del ciclo estral y reproductivo. Se recomienda 12 horas luz/12 horas oscuridad, lo cual se programa con un reloj temporizador (Fuentes et al., 2008).

- **Ruido**

Los ratones son muy sensibles al ruido y pueden percibir frecuencias de sonido que son inaudibles para el ser humano, por lo que el personal debe tratar de minimizar la generación de ruido innecesario. El ruido excesivo e intermitente se puede minimizar capacitando al personal en modos alternativos a las prácticas que producen ruido. Los radios, celulares, alarmas y otros generadores de sonido, aun con auriculares o audífonos, no deben usarse en las salas de alojamiento de animales. Se permite un nivel máximo de ruido de 85 decibeles, si estos son mayores tiene efectos nocivos como estrés y problemas de fertilidad (Fuentes et al., 2008).

- **Olor**

Es otro factor que afecta al ratón, es por ello que no se debe utilizar desinfectantes que emanen olores, que sean irritantes y mucho menos desodorizantes, dentro de los ambientes del bioterio. La percepción de amoniaco en el ambiente es un indicador de saturación del lecho, por lo que se recomienda tener programas de cambio de lecho según la población que se maneje (Fuentes et al., 2008).

2.4. ÁCIDOS GRASOS

Los ácidos grasos son ácidos orgánicos monoenoicos, que se encuentran presentes en las grasas, raramente libres, y casi siempre esterificando al glicerol y eventualmente a otros alcoholes. Son generalmente de cadena lineal y tienen un número par de átomos de carbono. La razón de esto es que en el metabolismo de los eucariotas, las cadenas de ácido graso se sintetizan y se degradan mediante la adición o eliminación de unidades de acetato. No obstante, hay excepciones, ya que se encuentran ácidos grasos de número impar de átomos de carbono en la leche y grasa de los rumiantes, procedentes del metabolismo bacteriano del rumen, y también en algunos lípidos de vegetales, que no son utilizados comúnmente para la obtención de aceites.
Los ácidos grasos (ácidos grasos libres) son poco frecuentes en los alimentos, y además son generalmente producto de la alteración lipolítica. Sin embargo,

son constituyentes fundamentales de la gran mayoría de los lípidos, hasta el punto de que su presencia es casi definitoria de esta clase de sustancias (Calvo, 2004).

Los ácidos grasos forman parte de los fosfolípidos y glucolípidos, moléculas que constituyen la bicapa lipídica de todas las membranas celulares. En los mamíferos, incluido el ser humano, la mayoría de los ácidos grasos se encuentran en forma de triglicéridos, moléculas donde los extremos carboxílico (-COOH) de tres ácidos grasos se esterifican con cada uno de los grupos hidroxilos (-OH) del glicerol (glicerina, propanotriol); los triglicéridos se almacenan en el tejido adiposo (grasa) (Moreno, 2010).

2.4.1. Clasificación de los Ácidos Grasos

Atendiendo a la estructura sin o con dobles enlaces se pueden clasificar en tres grandes grupos:

- **Saturados:** Son ácidos grasos sin dobles enlaces.

Ejemplo:

Ácido Esteárico (C18:0): (Ácido Octadecanoico)

CH3–CH2-CH2-CH2-CH2-CH2-CH2-CH2-CH2-CH2-(CH2)6-CH2-COOH

- **Monoinsaturados:** Son ácidos grasos con un doble enlace en su molécula. El número que viene precedido con una n o una omega es el átomo de carbono en donde se inicia el doble enlace (Moreno, 2010).

Ejemplo:

Ácido Oleico (C18: 1 n9) (Ácido 9, Octadecenoico)

CH3-CH2-CH2-CH2-CH2-CH2-CH2-CH2-**CH=CH**-(CH2)6-CH2-**COOH**

- **Poliinsaturados:** Son ácidos grasos con dos o más dobles enlaces en su molécula.

Ejemplos:

Ácido Linoleico (C18: 2 n6) (Ácido 6, 9, Octadecadienoico). Ácido graso esencial.

CH3-CH2-CH2-CH2-CH2-**CH=CH**-CH2-**CH=CH**-(CH2) 6-CH2-**COOH**

Este ácido graso es el cabeza de serie de los llamados ácidos grasos omega 6.

Ácido Linolénico (C18: 3 n3) (Ácido 3, 6,9, Octadecatrienoico). Ácido graso esencial

CH3-CH2-**CH=CH**-CH2-**CH=CH**-CH2-**CH=CH**-(CH2)6-CH2-**COOH**

Este ácido graso es el cabeza de serie de los llamados ácidos grasos omega 3.

El motivo de ser esenciales estos dos últimos, es que el organismo no puede introducir en la cadena carbonada dobles enlaces antes del carbono 9. Endógenamente se puede formar Oleico a partir del Esteárico (doble enlace en posición 9), motivo por el que el Oleico no es un ácido graso esencial (Moreno, 2010).

2.4.2. Ácidos Grasos Poliinsaturados (PUFAs)

Dentro de la serie de los omega-3, los más importantes en nuestra dieta son el ácido eicosapentaenoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA). Tanto el EPA como el DHA son de difícil síntesis endógena y poseen importantes funciones en el organismo:

- **EPA.** Es un ácido graso básico para la regulación de la funcionalidad cerebral (señal celular y riego sanguíneo neuronal), el desarrollo óptimo del cerebro y la vista, y la síntesis de las prostaglandinas. Puede convertirse fácilmente en DHA si es necesario.
- **DHA.** Es un ácido graso estructural, pues forma parte de las membranas celulares y es también importante para el desarrollo visual durante la gestación y la primera infancia (Moreno, 2010).

2.4.3. Mecanismos de Acción de los Ácidos Grasos Poliinsaturados (PUFAs)

Los ácidos grasos entran a los enterocitos por medio de una proteína que transporta ácidos grasos localizada en la pared intestinal. Los ácidos grasos con más de 14 carbonos, como es el caso del AL y ALN, se esterifican para formar triacilgliceroles dentro del enterocito y pasan a la circulación sanguínea a través de la vía linfática en forma de quilomicrones. La enzima lipoproteína lipasa (LPL), que se encuentra en la pared interna de los capilares sanguíneos hidroliza los triacilgliceroles presentes en las lipoproteínas de los quilomicrones liberando ácidos grasos incluyendo AGPIs. Los AGPIs libres se incorporan en los triacilgliceroles del tejido adiposo e inhiben la expresión génica de enzimas involucradas en la lipogénesis; en el músculo incrementan la oxidación de ácidos grasos y reducen la acumulación de triacilgliceroles; 3 en la glándula mamaria lactante se utilizan para la síntesis de los lípidos de la leche, 4 en el hígado son incorporados a triacilgliceroles y suprimen la síntesis de lípidos y estimulan la oxidación de ácidos grasos (Rodríguez et al., 2005).

2.5. OMEGA 3

El omega-3 o ácido linolénico es un tipo de grasa poliinsaturada esencial. Es poliinsaturada porque contiene más de 1 enlace doble en sus moléculas. Se denomina ácido graso esencial (AGE), porque que el organismo no puede fabricar este tipo de grasas, y por tanto, tienen que ser aportadas a través de la alimentación (Herrera et al., 2006).

Los ácidos grasos omega-3: α-linolénico, eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA) y omega-6: linoleico y araquidónico pueden formar parte de los triacilgliceroles que se consumen a través de la dieta. Sin embargo, si no se ingieren (EPA y DHA) pueden sintetizarse a través de reacciones bioquímicas ya conocidas. Los ácidos omega-3 y omega-6 forman parte de las membranas de la célula y por eso influyen en su permeabilidad. El DHA contribuye en la función sináptica, su bajo contenido en las membranas de las neuronas, propicia descenso de la transmisión de impulsos nerviosos. Usando modelos animales se ha podido demostrar que la ausencia

de ácidos omega-3 está asociada a procesos inflamatorios diversos y al desarrollo precario de neuronas en pacientes humanos con depresión. Se reconocen también efectos benéficos de los ácidos omega-3 sobre enfermedades cardiovasculares como hipertensión o isquemia (Herrera et al., 2006).

2.5.1. Mecanismo de Acción de Los Omega-3

Los AG Omega-3 ingeridos en la dieta se incorporan rápidamente a los depósitos grasos y fosfolípidos del organismo que debido a su falta de capacidad de síntesis dependen íntegramente de la dieta. Estos AG de los fosfolípidos son utilizados para la síntesis de moléculas como los eicosanoides. La ruta metabólica de síntesis comienza con la toma de un AG de los fosfolípidos de su membrana usando la fosfolipasa A2. Dependiendo del tipo de AG omega-3 versus omega-6 que ingrese en la ruta metabólica de síntesis de los eicosanoides se obtendrán moléculas con muy diferente actividad. Cuando el AG precursor es omega-6 el resultado es la síntesis de tromboxano A2, prostaglandina E2 y leucotrieno B4, C4 y D4, moléculas con potente efecto agregante plaquetario y mediadores de la inflamación. Mientras que si el precursor de la ruta metabólica es un AG omega-3 (EPA o DHA) se produce tromboxano A3, prostaglandina E3 y leucotrieno B5, C5 y D5 con un débil efecto agregante plaquetario y una menor actividad como medidores de la inflamación. El efecto final de esta ruta metabólica cebada por los omega-3 es un efecto antiinflamatorio por modulación de sus mediadores al sustituirlos por otra serie de moléculas de menor actividad pro-inflamatoria. Los AG Omega-3 también tienen la capacidad de modular muchos otros procesos del sistema inmunitario como la producción de citoquinas, expresión de receptores de membrana, respuesta a mitógenos por parte de las célula inmunes, producción de especies oxidantes, producción y tipo de eicosanoides, capacidad de fagocitosis, quimiotaxis, apoptosis, ejerciendo un efecto inmunomodulador (Herrera et al., 2006).

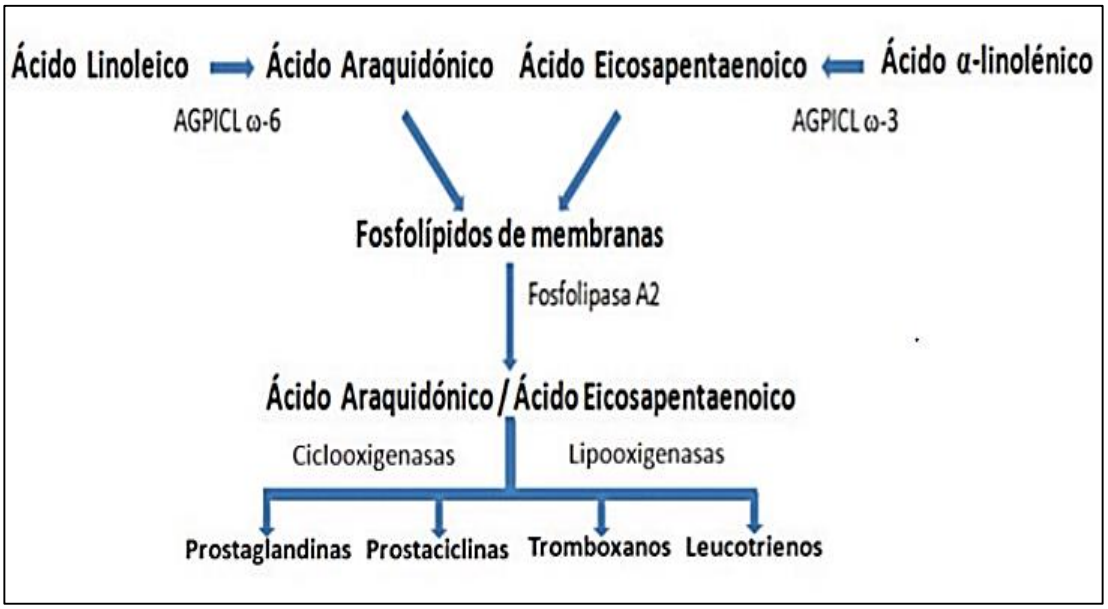

Figura 1: Bioconversión y efectos metabólicos de eicosanoides derivados del ácido araquidónico (AA) y ácido eicosapentaenoico (EPA) (Herrera et al., 2006).

2.5.2. Metabolismo de los Ácidos Grasos Omega-6 y Omega-3

Tras ser adquiridos a través de la dieta, LA y ALA son metabolizados a través de vías enzimáticas de desaturación y elongación que tienen lugar principalmente en el hígado. La enzima Δ6-desaturasa convierte el LA en ácido γ-linoleico (GLA, 18:3 omega -6) que es elongado a ácido dihomo-γ-linoleico (DGLA, 20:3 omega -6), el cual a su vez es el sustrato de la enzima Δ5-desaturasa dando lugar al ácido araquidónico (AA, 20:4 omega -6). La misma combinación de enzimas que interviene en el metabolismo de los ácidos grasos omega-6 puede metabolizar el ALA dando lugar a toda la familia de ácidos grasos omega-3. Por esta ruta enzimática, ALA se convierte en ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5n-3) y éste a su vez, en ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6 oemga-3) a través de tres etapas. Primero EPA gana dos átomos de carbono, dando lugar al ácido docosapentaenoico (DPA, 22:5 omega-3). Luego se añaden dos átomos de carbono, dando lugar al ácido 24:5n-3, que es desaturado y se convierte en el ácido 24:6 omega-3. Finalmente, este ácido pierde dos átomos de carbono mediante β-oxidación originando DHA. El AA puede ser metabolizado de forma paralela por las mismas enzimas, produciendo por los ácidos 22:4n-6, 24:4n-6, 24:5n-6 y

22:5n-6, lo que significa que LA y ALA compiten constantemente por las mismas enzimas (González, 2009).

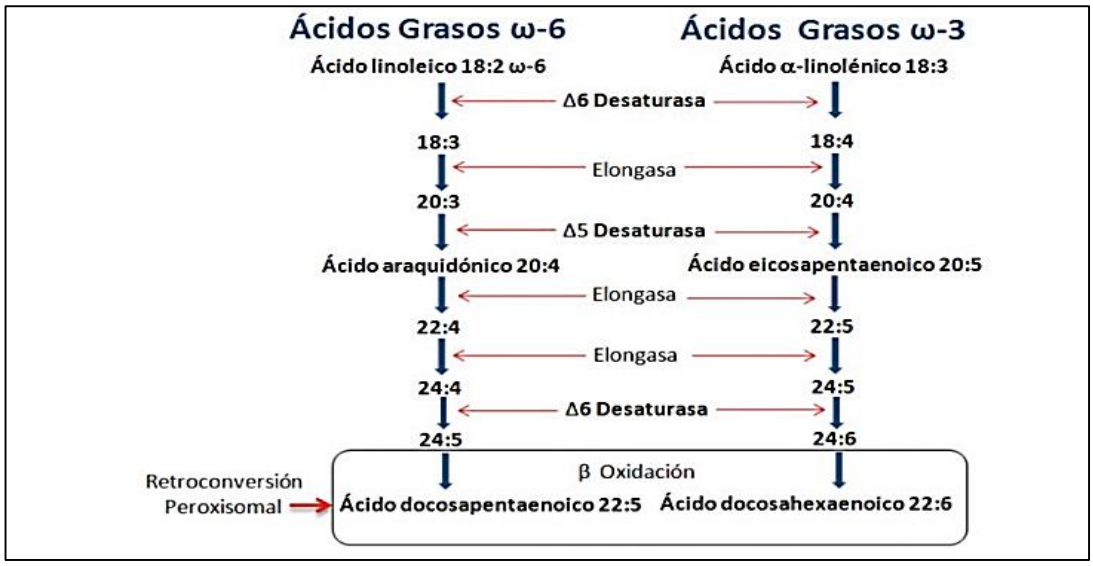

Figura 2: Metabolización de ácidos grasos poliinsaturados omega-6 y omega-3. Vías de desaturación y elongación de los ácidos linoleico y α-linólénico (Valenzuela et al., 2011).

2.5.3. Efecto de la Suplementación de Omega-3 en la Progenie

El ratón, como la rata, requiere ácido linoléico para evitar los signos clásicos de la deficiencia, sin embargo, el requisito preciso para n-6 ácidos grasos no se ha determinado. En 5 mg linoleato / día alivia los síntomas clínicos de la deficiencia de la EPT en tres cepas de ratones (C57, DBA, C3H) que se había convertido en la EPT con deficiencia de después de comer una dieta libre de grasas de más de 50 días después del destete. Las necesidades de n-6 de los ratones se desconocen, es probable que la exigencia sea mayor en los ratones jóvenes que están creciendo (Tove, 1959)

La tasa de consumo de linoleato en el tejido es bifásica con la pérdida más rápida que ocurre cuando el linoleato forma parte de más de 20 por ciento de los depósitos de grasa. Además, los ratones hembras y machos inmaduros perder linoleato más rápidamente que los machos adultos durante la más lenta, la segunda fase de agotamiento. El requisito de linoleato de ratones embarazadas y lactantes se desconoce, aunque se debe aumentar durante la

lactancia al igual que en la rata y para una dieta de la rata normal es de 0,68 % de la dieta ME como linoleato, por lo tanto, la cantidad recomendada de ácido linoléico es de 0,68 % de la dieta de los ratones (Tove, 1959).

2.5.4. Efecto de omegas-3 sobre la determinación del sexo

También se ha estudiado este fenómeno dando mayor énfasis en la acción de determinados ácidos grasos (Rosenfeld et al. 2003, Alexenko et al., 2007, Whyte et al., 2007). Se observó que las madres alimentadas con suplementos de ácidos grasos poliinsaturados como los Omega 6 y 3, desarrollan mayor ansiedad y estrés que los controles. Esto se ve reflejado en la construcción de los nidos y en la estereotipia de acicalar excesivamente el pelaje de sus crías, por lo que pudiera tener un resultado directo con la disminución de la proporción de sexos de la camada. Al parecer, los suplementos de ácidos grasos de Omega 6 poseen una mayor actividad para la ansiedad que los de Omega 3 (Wells 2000, Rosenfeld y Roberts 2004, Uller 2005). Tanto es así que la proporción de la distorsión de sexos es el doble de hembras que de machos empleando suplementos de Omega 6, lo cual contradice los resultados que afirmaban que el ahorro de ácidos grasos poli-insaturados distorsionan el sexo hacia machos debido al alto contenido de ácido palmítico, esteárico y oleico (Fountain et al. 2008), como se ha observado en humanos, donde parece que el enriquecimiento de Omega 6 y sobre todo de Omega 3, tiene un efecto en producir más hombres que mujeres (Austad1986, Crawford 1987).

También se ha observado en ratas una disminución de la proporción de los sexos en función del alto contenido de sodio, potasio y bajo contenido en calcio en el alimento (Til 1971, Bird y Contreras 1986). Además se ha reportado que otros electrolitos presentes en la dieta materna, también afectan la proporción de los sexos cuando no se encuentran en equilibrio, como se describe en un estudio realizado en humanos (Papa et al. 1983). Por ello, es lógico que la alimentación materna esté muy relacionada con lo que puede ocurrir en el ambiente uterino, debido a que sus secreciones contienen nutrientes que son esenciales para la supervivencia del embrión y el feto, con

lo cual el aumento o disminución del tamaño de camada puede alterar la proporción del sexo (Carter, 2007). Además, los micronutrientes son muy importantes debido a que su carencia o el exceso de estos (los cuales son donadores de grupos metilo como el ácido fólico, vitamina B12, metionina y colina) afectan a la progenie; un rasgo fenotípico claro se observa en la pérdida de coloración del pelaje (Waterland et al., 2006).

En el ratón el establecimiento de la cresta gonadal ocurre entre los 10-12 días post coito (dpc) y el periodo que corresponde a los 10.5-11.5 dpc se considera crítico para la determinación sexual a nivel molecular. La influencia de la hembra en caracteres como tamaño y peso de camada o peso de la cría al nacimiento es bien conocida (Díaz y Merchant, 2008).

2.5.5. Necesidades nutricionales de los animales de laboratorio: requerimientos de nutrientes del ratón

Los animales deben recibir alimento en cantidad y calidad suficiente para sus necesidades y para conservar la salud. El acceso al alimento debe ser libre y dosificado de acuerdo con los requerimientos, así cuando los animales se albergan en grupos, debe haber suficientes puntos de alimentación para minimizar la competencia por el alimento y asegurar que todos los ratones tengan acceso al alimento. El alimento se suministra diariamente; se incrementará los días que se considere necesario por razones de fuerza mayor (Fuentes et al., 2008).

Los ratones *Mus musculus* se han utilizado como modelos animales para la investigación biomédica en genética, oncología, toxicología e inmunología, así como la biología celular y del desarrollo. El uso generalizado de esta especie se puede atribuir a la tasa del ratón altas tasas de fecundidad, período de gestación corto, pequeño tamaño, facilidad de mantenimiento, la susceptibilidad o la resistencia a diferentes agentes infecciosos, y la susceptibilidad a enfermedades infecciosas o genéticas que afectan a los seres humanos. Estimación de las necesidades cuantitativas de nutrientes de los ratones es debido a la gran variación genética dentro de las especies y los

diferentes criterios utilizados para evaluar la adecuación nutricional de las dietas (Cedeño, 2011).

Cuadro 3: Requisitos Nutricionales Estimados de Ratones

Nutriente	Unidad	Suma de Kg, por dieta	Comentario/Referencia
Lípidos	g	50.0	
Acido de Linoléico	g	6.8	
Proteína (N × 6.25)			
Crecimiento	g	180.0	Equivalente a 20% la caseína complementó con 0.3% DL-metionina o 24% la caseína
Reproducción	g	180.0	Ingredientes naturales
Aminoácidos			
Arginina	g	3.0	
Histidina	g	2.0	
Isoleucina	g	4.0	
Leucina	g	7.0	
Valina	g	5.0	
Treonina	g	4.0	
Lisina	g	4.0	
Metionina	g	5.0	Cistina puede reemplazar 50-66.6%
Fenilalanina	g	7.6	Tirosina puede reemplazar 50%
Triptófano	g	1.0	Niacina puede reemplazar 0.025%
Minerales			
Calcio	g	4.0	
Cloruro	g	0.5	
Magnesio	g	0.5	0.7 g/kg para la lactación

Fósforo	g	3.0	
Potasio	g	2.0	Pueden requerirse concentraciones más altas para la lactación
Sodio	g	0.5	
Cobre	mg	6.0	8.0 mg/kg para el embarazo y lactación
Hierro	mg	35.0	
Manganeso	mg	10.0	
Zinc	mg	10.0	30 mg/kg para la reproducción y lactación
Yodo	µg	150.0	
Molibdeno	µg	150.0	
Selenio	µg	150.0	Forma de selenita de Se
Vitaminas			
A (Retinol) ***(a)***	mg	0.72	
D (calciferol) ***(b)***	mg	0.025	
E (RRR - - tocoferol) ***(c)***	mg	22.0	
K (filoquinona)	mg	1.0	
Biotina (d-biotina) B8	mg	0.2	
Colina (bitartrato de colina)	mg	2,000.0	
Ácido fólico (B9)	mg	0.5	
Niacina (ácido nicotínico) B3	mg	15.0	
Ácido Pantoténico (B5)	mg	16.0	
Riboflavina (B2)	mg	7.0	

Tiamina (tiamina-HCl) B1	mg	5.0	
B6 (piridoxina-HCl)	mg	8.0	1 mg/kg para el mantenimiento
Cobalina B12	µg	10.0	

Fuente: Cedeño, 2013

2.5.6. Fuentes de Omega-3

Los pescados son la mayor fuente de EPA y DHA, mientras que los aceites vegetales los son del ácido a-linolénico (conocido como ALA). Otras fuentes de Omega-3 que contribuyen colectivamente en la dieta son algunas nueces y semillas, como lino y chía (Alessandri y Gaona, 2011).

2.5.6.1. Chía *(Salvia hispanica L.)*

El uso de la semilla y sus subproductos se remonta a la época de los Mayas y los Aztecas, quienes empleaban la semilla como alimento, medicina, ofrenda a los dioses y materia prima para producir un aceite que era empleado como base en pinturas decorativas y ungüentos cosméticos. La harina tostada, otro de sus subproductos, era utilizada para la elaboración de una popular bebida nutritiva denominada “Chía fresca” (agua, limón, chía). Pero años después del descubrimiento de América, los cereales aportados por los españoles desplazaron su cultivo, el cual casi llegó a desaparecer. El interés por la chía resurgió por considerarla buena fuente de omega-3, fibra alimentaria, proteína y antioxidantes (Ayerza y Coates, 2006).

2.5.6.2. Clasificación Taxonómica de la Chía

Cuadro 4: Clasificación Taxonómica de la Chía

Reino	Plantae- Planta
Subreino	Tracheobionta – Planta vascular
División	Magnoliophyta – Angiosperma
Clase	Magnoliopsida – Dicotiledónea

Subclase	Asteridae
Orden	Lamiales
Familia	Lamiaceae – Menta
Género	Salvia L – Salvia
Especie	*Salvia hispanica L*.

Fuente: Ayerza y Coates, 2006

Su planta tiene una altura entre un 1,0 y 1,5 metros, y sus tallos son ramificados, de sección cuadrangular con pubescencias cortas y blancas. Las hojas opuestas con bordes aserrados miden de 80 a 100 cm de longitud, y 40 a 60 mm de ancho. Sus flores de color azul intenso o blancas se producen en espigas terminales, esta descripción morfológica de las flores fue abordada por Martínez como se muestra en la Figura 1 (Martínez, 1959). Las semillas son ovales, suaves, brillantes y miden entre 1,5 y 2,0 mm de longitud. Según la variedad, su color puede ser blanco o negro grisáceo con manchas irregulares que tienden a un color rojo oscuro (Ayerza y Coates, 2006).

Figura 3: Planta y semilla de chía (Salvia hispanica L.) (Ayerza y Coates, 2006).

2.5.6.3. Importancia de la Chía

Son una excelente fuente de fibra y antioxidantes, calcio, proteínas y ácidos grasos omega 3 de origen vegetal. Es importante porque ayuda a controlar la obesidad, dan sensación de saciedad, regulan el nivel de azúcar en sangre, reducen el colesterol y regulan el tránsito intestinal. Por su alto contenido en proteínas: ayuda a construir y regenerar músculos y tejidos. Ideal para etapas

de crecimiento. Por su alto contenido en antioxidantes: ayudan a eliminar radicales libres y desempeñan un rol beneficioso en el sistema inmunológico. Por su contenido en ácidos grasos esenciales: ayudan a prevenir enfermedades cardiovasculares, a normalizar la tensión arterial elevada, a mantener la flexibilidad de las membranas celulares, reducen el nivel de colesterol, protegen el corazón, mejoran la salud del sistema nervioso e inmunológico (Di Sapio et al., 2008).

Además la semilla de Chía es una buena fuente de vitaminas del complejo B (B1, B2, B3, B6 y B8), vitamina E y vitamina A. Además contiene calcio, fósforo, magnesio, potasio, hierro, zinc, selenio, boro y cobre. Otra ventaja es el muy bajo contenido en sodio que tiene esta semilla (Morassi, 2008).

2.5.6.4. Composición de la Chía

La semilla de chía además de su alto contenido de omega 3 presenta en su composición otros componentes de gran interés para la nutrición, como fibra, proteína (19-23%), antioxidantes (principalmente flavonoides), vitaminas (grupo B como Niacina, tiamina y ácido fólico, así como vitamina A) y algunos minerales (Ca, Fe, Mg, K, P, Zn y Mn). Otra de las grandes ventajas de esta semilla es su bajo contenido en sodio. Además posee un 33 % de aceite, del cual el ALA representa el 62 % y el LA el 20 %. La chía es el cultivo con mayor porcentaje de AGE al tener el 82 % de sus lípidos con dicha característica (Garcés, 2013)**.**

Cuadro 5: Contenido de minerales y vitaminas en semillas de chía.

Nutriente	**Semilla**
Macroelementos (mg/100 g)	
Calcio	714
Potasio	700
Magnesio	390
Fósforo	1067

Microelementos (mg/100 g)	
Aluminio	2,0
Boro	-
Cobre	0,2
Hierro	16,4
Manganeso	2,3
Molibdeno	0,2
Sodio	-
Zinc	3,7
Vitaminas (mg/100 g)	
Niacina, B3	6,13
Tiamina, B1	0,18
Riboflavina, B2	0,04
Vitamina A 44 IU	44 UI

Fuente: Garcés, 2013

2.5.7. Fuentes de Omega- 9

Los aceites de canola, girasol, oliva y nuez contienen importantes niveles de ácidos grasos omega 9, también conocidos como ácido oleico o grasas monoinsaturadas.

2.5.7.1. Aceite de oliva *(Olea europea)*

Figura 4: Aceite de oliva (Oteros, 2014).

El aceite de oliva es un alimento altamente energético, aporta 9 kcal/g provenientes de sus ácidos grasos, de los cuales el ácido oleico representa del 68-81.5%, siendo por ello el aceite considerado una grasa monoinsaturada. Pero más allá de su alto valor energético, presenta efectos positivos sobre la salud de los consumidores que lo convierten en un alimento funcional (Lozano *et al.,* 2007).

Desde el punto de vista bromatológico, podemos establecer que la composición del aceite de oliva queda dividida en dos fracciones: fracción mayoritaria, que representa el 98- 99% del peso total del aceite, y fracción minoritaria que alcanza sobre el 2% del peso del aceite de oliva (Lozano *et al.,* 2007).

2.5.7.2. Clasificación Taxonómica

Cuadro 6: Clasificación Taxonómica de la Oliva (*Olea europaea*)

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Lamiales
Familia	Oleaceae
Género	*Olea*
Especie	*O. europea*

Fuente: Oteros, 2014

Olea europaea, olivera, olivo o aceituno, es un arbusto perennifolio, longevo, que puede alcanzar hasta 15 m de altura, con copa ancha y tronco grueso, retorcido formado por ramas entrelazadas. Posee una corteza finamente fisurada, de color gris o plateado, hojas opuestas, de 2 a 8 cm de largo, lanceoladas con el ápice ligeramente puntiagudo, enteras, coriáceas, glabras y verdes grises oscuras por la haz, más pálidas y densamente escamosas por el envés, más o menos sésiles o con un peciolo muy corto. Las flores son hermafroditas, en panículas axilares multifloras, con corola blanca. El fruto, la aceituna, es una drupa suculenta y muy oleosa de 1 a 3,5 cm de largo,

ovoide o algo globosa, verde al principio, que precisa de aproximadamente medio año, en variedades dedicadas a la producción de aceite, para adquirir un color negro-morado en su plena madurez. Su periodo de floración sucede entre mayo y julio en el hemisferio norte, y entre noviembre y enero en el hemisferio sur, mientras que su periodo de fructificación se lleva a cabo entre septiembre y diciembre en el hemisferio norte, y entre marzo y junio en el hemisferio sur (Oteros, 2014).

2.5.7.3. Composición

El aceite de oliva es el producto obtenido del fruto del olivo (*Olea europea*), la aceituna. Está constituido por:

Grasas en un 98%: Son vehículo de absorción de las vitaminas liposolubles y ciertos minerales, y suponen un importante aporte energético. El ácido oleico, mayoritario en el aceite de oliva, pertenece al grupo de los monoinsaturados, considerado cardiosaludable por su acción antitrombótica y antioxidante.

Otros compuestos, en muy bajo porcentaje, que ejercen importantes funciones en el organismo, como son:

- **Carotenos:** Se convierten en vitamina A.
- **Clorofilas:** Poseen propiedades antioxidantes.
- **Tocoferoles:** Como la vitamina E, con propiedades antioxidantes.
- **Esteroles:** Compiten con la absorción intestinal del colesterol, impidiendo su exceso en el organismo.
- **Compuestos fenólicos:** con propiedades antioxidantes (Lozano *et al.,* 2007).

2.5.7.4. Valoración nutricional

La composición en ácidos grasos del aceite de oliva varía levemente, dependiendo del clima, suelo, variedad de la aceituna utilizada, etc. Los

porcentajes en ácidos grasos saturados (AGS), monoinsaturados (AGM) y poliinsaturados (AGP) suelen oscilar en torno al 17%, 71% y 11%, respectivamente. Además, este perfil —rico en AGM y bajo en AGP— hace al aceite de oliva mucho más estable que otros aceites —ricos en AGP—, e ideal para la fritura en baño de aceite —técnica culinaria característica de la Dieta Mediterránea, que en los últimos años se está extendiendo por otros países gracias al conocimiento de sus ventajas tanto para la elaboración del alimento, como para su organolepsis y valor nutritivo final (Moreiras et al., 2013.)

2.6. TRABAJOS RELACIONADOS

Perez et al., (1998) utilizaron aceites de oliva, girasol y oleína de palma, cruda o procedente de frituras repetidas de patatas sin reposición de aceite hasta alcanzar el límite del 25% de compuestos polares (CP). Ratas Wistar se alimentaron durante 28 días con dietas que contenían un 8% de: aceite de oliva, aceite de oliva de 48 frituras, aceite de oliva de 69 frituras (25% CP), aceite de girasol, aceite de girasol de 48 frituras (25% CP), oleína de palma y oleína de palma de 80 frituras (25% CP). Peso e ingesta se controlaron semanalmente y se calculó el coeficiente de eficacia alimentaria.
Al final del experimento los animales se sacrificaron para extraer los hígados y determinar el índice hepatosomático. El consumo de los aceites empleados en fritura no modificó la ingesta, peso, coeficiente de eficacia alimentaria ni el peso de los hígados, observándose únicamente un incremento del índice hepatosomático en los animales que ingirieron la oleína de palma frita frente a la cruda. No existieron diferencias significativas en la ingesta alimentaria, en la evolución ponderal ni en el coeficiente de eficacia alimentaria debidas al consumo de los tres tipos de aceites, al mayor o menor número de frituras ni al grado de alteración. Durante el período experimental la ingesta alimentaria y el peso de los animales aumentó en todos los grupos, mientras que la eficacia alimentaria disminuyó.

Rosenfeld et al., (2003) ha observado que una dieta alta en grasa generaba mayor descendencia de machos, aun cuando los contenidos calóricos eran similares a los de la dieta control. Sin embargo existen otros datos

contradictorios, ya que algunos autores han observado que al disminuir los niveles de grasa en el alimento, la proporción de sexos inclinó la balanza hacia el nacimiento de un mayor número de hembras en la camada (Alexenko et al., 2007). En los laboratorios Jackson siempre se usaba la misma marca comercial de alimento que contenía un porcentaje relativamente alto de grasa y contenido proteico y se hizo un estudio retrospectivo con diferentes cepas de ratones desde 1959 hasta 1966, donde se analizó si esta condición influía en la proporción de los sexos. Los resultados mostraron que no había una distorsión significativa de los sexos (Schlager 1968). Tampoco se observó cambios significativos en la desviación de la proporción de sexos cuando se administraron dietas altas en grasa a ratonas que se cruzaron a las 10 semanas de edad. Sin embargo, cuando se realizaron los cruces después de 20, 28 y 40 semanas, se apreció un claro aumento en la proporción de machos en la dieta alta en grasa con respecto a las hembras, y por el contrario en ratonas alimentadas con menor cantidad de grasa y alta cantidad de carbohidratos, la proporción de sexos disminuyó significativamente (Rosenfeld et al. 2003, Rosenfeld y Roberts 2004, Baker 2005). Otros estudios se han centrado en crear un estrés alimentario disminuyendo la cantidad de ácidos grasos en las dietas, observando que las crías son más pequeñas y las camadas tienen una tendencia a tener más hembras (Rivers 1974, Kwong 2000). Otros estudios remarcan la importancia que tiene la sustitución alimentaria por alimento de mayor o menor aportación energética, o reflejan las fuentes calóricas que se tienen en la dieta y que modifican la proporción de los sexos en la descendencia, se ha visto en ratones que ante una dieta alta en energía se obtuvo en los nacimientos un 75% de machos, mientras que una dieta de menor contenido energético produjo un 46% de machos (Rosenfeld et al. 2003).

3. METODOLOGÍA

3.1. MATERIALES

3.1.1. Materiales de Campo

- 90 Ratones (45 hembras y 45 machos)
- Bioterio
- Registros
- Balanza digital
- Guantes
- Viruta
- Libreta de campo
- Mandil
- Cámara fotográfica

3.1.2. Materiales de Oficina

- Computadora
- Calculadora
- Esferos
- Folletos de información
- Hojas de papel bond
- Libros

3.1.3. Insumos

- Aceite de chía
- Aceite de oliva
- Ración base

3.2. UBICACIÓN

La presente investigación se realizó en el Bioterio de la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional de Loja. La Ciudad de Loja tiene de una Altitud de 2100 msnm, posee una temperatura promedio que fluctúa entre 16 a 21°C, tiene una precipitación anual de 769,7mm, se

encuentra dentro de la formación ecológica Bosque Seco Montano Bajo, posee un clima templado.

3.3. DESCRIPCIÓN Y ADECUACIÓN DE INSTALACIONES

La presente investigación se realizó en el Bioterio de la Faculta Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables de la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional de Loja, cuya dimensión de la instalación era de 7,5 m^2, donde se utilizarón baterías metálicas con 45 compartimentos independientes con una dimensión de 27 x 11 x 17 cm, con su respetivo comedero y bebedero, cada compartimento permitió el alojamiento de un animal y su camada. Las instalaciones y equipos fueron previamente desinfectados con detergente, hipoclorito de sodio al 1% y yodo al 5%, primeramente se procedió a colocar las jaulas, rejillas y bebederos en una solución de agua con detergente, posteriormente se ubicaron en una solución de hipoclorito de sodio al 1%, luego se enjuagaron e introdujeron en una solución de yodo al 5%.

Una vez realizada la limpieza y desinfección de las instalaciones se procedió a realizar la adecuación de las mismas, primeramente se colocó la cama (viruta) en sus respectivas jaulas previamente tamizada y desinfectada, posteriormente se verifico las condiciones climáticas del Bioterio considerando que la temperatura fue monitoreada usando termómetro de máxima y mínima la cual era de 22°C, humedad relativa de 40 – 70%, ventilación adecuada e iluminación natural (12 horas luz, 12 horas oscuridad) y la calidad de aire se asegurara a través del uso de un extractor el cual permitió la renovación continua de aire.

3.4. DESCRIPCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LAS UNIDADES EXPERIMENTALES

Se trabajó con 45 ratones hembras de la especie *Mus musculus*, cepa CDR-51 de seis semanas de edad con un peso aproximado de 31.6 ± 2.38 g, los mismos que fueron adquiridos en el Instituto Nacional de Salud Pública e Investigaciones (INSPI), ubicado en la ciudad de Cuenca.

3.5. DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño experimental que se utilizo es el diseño completamente aleatorizado. Con tres tratamientos 15 repeticiones por tratamiento. Los tratamientos fueron asignados a cada animal al azar.

3.6. DESCRIPCIÓN DE LOS TRATAMIENTOS

Los tratamientos estuvieron constituidos en el siguiente orden:

Tratamiento uno (T1): dieta base + aceite de chía 3% + aceite de oliva 2%

Tratamiento dos (T2): dieta base + aceite de chía 5%

Tratamiento tres, control (T3): dieta base + aceite de oliva 5%

A todos los tratamientos se les administraba una dieta base ad libitum. Los aceites se suministrarón adicional a la dieta.

El alimento balanceado perteneció a la casa comercial WAYNE que está compuesta por los siguientes ingredientes:

Maíz, afrecho de trigo, pasta de soya, carbonato de calcio, fosfato bicalcico, aceite de palma, sal, atrapante de motoxinas, antifúngico, metionina sintética, vitamina A, vitamina D3, vitamina E, vitamina K, tiamina, niacina, riboflavina, Pantoténico, vitamina B12, ácido fólico, biotina, piridoxina, colina, manganeso, zinc, hierro, cobre, yodo, selenio, cromo.

La composición aproximada de la dieta se muestra en el cuadro 8:

Cuadro 7: Composición de la dieta comercial para los ratones.

Composición	Mínimo	Máximo
Humedad	8,0%	13,0%
Proteina Cruda	21,5%	23,0%
Grasa Cruda	2,5%	6,5%
Fibra Cruda	1,0%	5,0%

3.7. CONFORMACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE GRUPOS EXPERIMENTALES

Cada tratamiento estuvo conformado por 15 hembras. Los tratamientos fueron identificados, T1, T2 y T3. Los animales estuvieron identificados con la respectiva rotulación en cada compartimento del T1 desde el R1 al R15, los del T2 del R16 al R30 y los del T3 del R31 al R45.

3.8. MANEJO

3.8.1. Manejo de los Animales

Una vez conformado los grupos experimentales se colocó cada animal en su respectiva jaula y se precedió al suministro de los diferentes tratamientos, por ello se realizó agujeros en el balanceado donde se incluyó 0,24 ml/animal/día de aceite de cada tratamiento, posteriormente se colocó en su respectiva jaula. Este manejo se realizó todos los días de 07h00 a 08h00 am, posteriormente se administró 7 g/animal/día de alimento balanceado distribuidos en dos raciones una en la mañana y otra en la tarde más agua ad-libitum.

Cabe destacar que se realizó un período corto de adaptabilidad de los animales al suministro de los diferentes tratamientos. Además en los primeros 8 días se administró vitaminas y minerales.

Semanalmente se pesó cada uno de los animales y a la vez se procedía a pesar de la misma manera el alimento para cada uno de ellos considerando que un ratón hembra consume 7 g/animal/día y se colocó en tarrinas plásticas individuales.

Se realizó el cambio de cama una vez por semana, se lavó y desinfectó las jaulas con detergente y yodo al 5%, posteriormente se colocó la viruta previamente tamizada. La limpieza del piso del biotero se realizó con detergente y cloro una vez por semana, todos los días se barrió el mismo y se verificó diariamente las condiciones climáticas del biotero.

3.8.2. Manejo Reproductivo de los Animales

Previo al empadre se pesó las hembras cuyo promedio de peso fue de 31.6 ± 2.38 g, el tipo de empadre que se utilizó fue el apareo manual o temporario, permaneciendo el macho junto a la hembra por un lapso de 7 días cuya finalidad fue asegurar la preñez. El segundo y tercer empadre se realizó a los 3 días post-parto.

El tiempo de gestación promedio fue de 21 días, donde se verificó el parto a través del nacimiento de las crías, datos que se registró de acuerdo a los tratamientos.

3.9. TOMA Y REGISTRO DE DATOS

3.9.1. Consumo de alimento

Se determinó por la diferencia entre la cantidad alimento suministrado semanalmente y el alimento sobrante dividido para los siete días de la semana, asi obteniendo el consumo real, aplicando la siguiente formula:

$$\boldsymbol{CA = A\text{limento suministrado} - \text{Alimento sobrante}}$$

3.9.2. Incremento de peso

Se tomó semanalmente de cada animal y para calcular su incremento de peso se utilizó la siguiente fórmula:

$$\boldsymbol{\Delta P = PF - PI}$$

3.9.3. Peso de la camada al destete

Se tomó el peso de cada camada al momento de realizar el destete de las crías.

3.9.4. Tamaño de la camada al destete

Se determinó la relación entre el peso promedio diario y el tamaño de la camada de ratones y se establece el número máximo de crías destetadas/camada con un peso lo más próximo al estándar internacional esperado.

3.9.5. Eficiencia alimentaria

Se calculó de la siguiente manera:

$$\boldsymbol{EA} = \frac{\textbf{Incremento de peso}}{\textbf{Consumo de alimento}}$$

3.9.6. Sexo de la camada

Se determinó al reconocer la cresta genital, los conductos y el seno urogenital se estableció como primordios indiferenciados en los embriones de ambos sexos.

3.9.7. Supervivencia de la camada

Se determinó por la el seguimiento de los ratones nacidos hasta el tiempo transcurrido al momento del destete.

3.10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un análisis de medidas repetidas para los parámetros productivos, utilizando el procedimiento mixed del SAS (Sas UniversityEdition, 2016). En el que se incluyó como principales factores fijos de variación el tratamiento y el ciclo reproductivo y como variable aleatoria al animal. Las medias se compararon utilizando un test t protegido.

4. RESULTADOS

4.1. CONSUMO MEDIO DIARIO CMD(g)

En el cuadro 8 y la figura 5 se muestran los consumos medios diarios (g) de las ratonas por semana durante las 13 semanas de desarrollo de la investigacion. Los consumos variaron entre 2 a 8 g/día.

Cuadro 8: Consumo medio diario de los ratones hembras en estudio (g).

SEMANA	TRATAMIENTOS		
	Chia_3	Chia_5	Control
1	2,30	2,13	2,20
2	3,10	3,26	3,99
3	3,72	4,45	5,33
4	5,21	5,06	5,17
5	5,53	6,18	6,28
6	5,47	7,64	8,09
7	6,35	6,10	7,32
8	7,54	6,76	7,15
9	7,76	5,58	7,12
10	4,59	5,00	6,02
11	5,51	7,13	7,64
12	5,24	5,66	6,65
13	5,35	5,96	5,82
Promedio	**5,21**	**5,46**	**6,06**

Fuente: Investigación autor

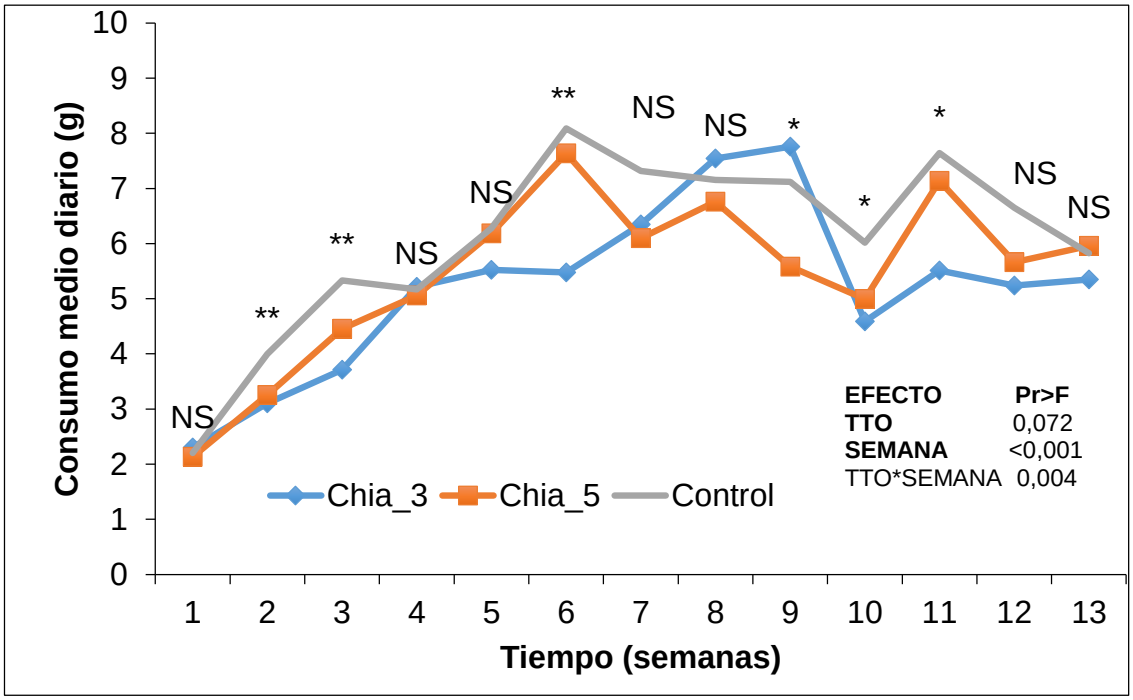

Figura 5: Consumo medio diario de los ratones hembras en estudio (g)

El consumo fue variable entre las distintas semanas, observándose una interacción del tratamiento con la semana (P = 0,004). De media el consumo de los animales del tratamiento control fue un 16% superior (P=0,026) al grupo con el tratamiento de chía al 3%. Mientras que el consumo del grupo de chía al 5% fue intermedio. Las diferencias mostradas entre el grupo control y chía al 3% se evidenciaron en la semana 2, 3, 6, 9, 10, 11 (P≤0,036).

4.2. GANANCIA MEDIA DIARIA GMD (g)

En el cuadro 9 y la figura 6 se muestran las ganancias medias diarias (g) de las ratonas por semana durante las 13 semanas de desarrollo de la investigación. Las ganancias medias diarias variaron entre -1,1 a 0,9 g/día.

Cuadro 97: Ganancia media diaria de los ratones hembras en estudio (g)

SEMANA	TRATAMIENTOS		
	Chia_3	**Chia_5**	**Control**
1	0,101	0,159	0,250
2	-0,115	0,195	0,350
3	0,419	0,509	0,721
4	0,025	-0,462	-0,643
5	0,340	0,408	0,182
6	0,912	0,049	0,492
7	-1,10	-0,351	-0,150
8	0,371	0,314	0,290
9	-0,155	0,347	0,185
10	0,023	0,144	-0,052
11	0,253	-0,427	-0,329
12	-0,195	-0,342	0,004
13	-0,146	0,235	-0,215
Promedio	**0,057**	**0,060**	**0,083**

Fuente: Investigación autor

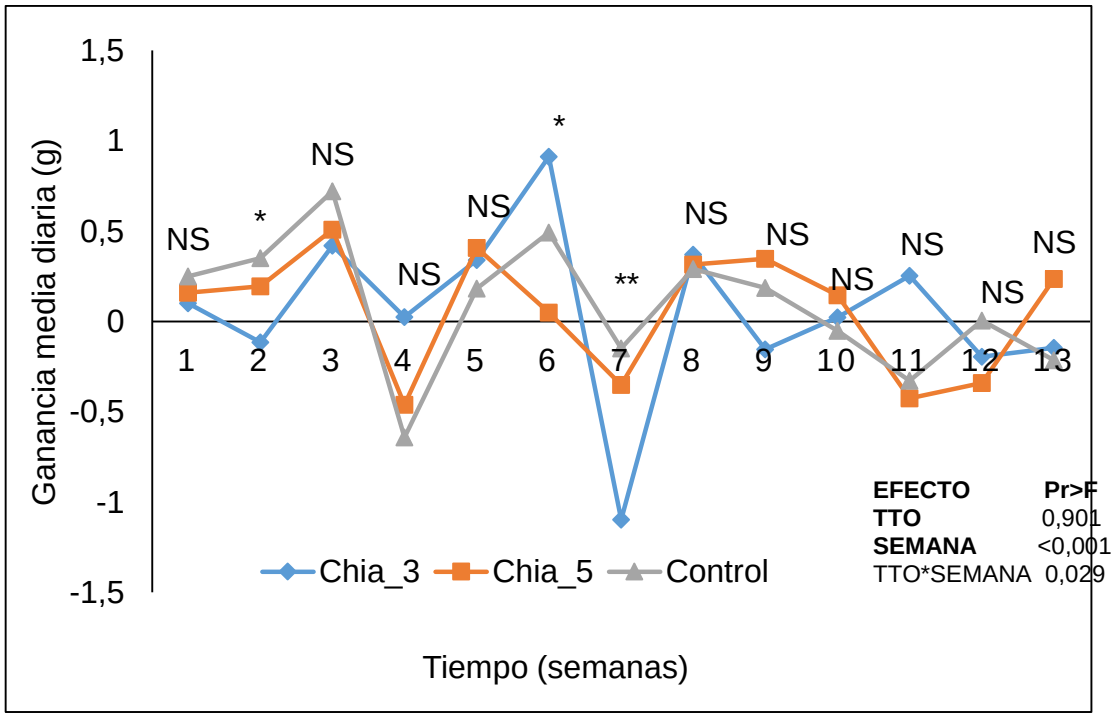

Figura 6: Ganancia media diaria de los ratones hembras en estudio (g)

La ganancia de peso fue variable entre las distintas semanas, observándose interacción del tratamiento con la semana (P=0,029). Sin embargo, existe diferencia significativa entre los grupo de ratones que ingirió la dieta control vs Chía al 3% que se evidenciaron en la semana 2 y 7 (P ≤ 0,009). Se observó que la ganancia de peso fue menor en los grupos que consumieron la dieta Chía al 5%, sin existir diferencia significativa entre las semanas 1, 3, 4, 5, 8, 9, 10, 11, 12 y 13.

4.3. EFICIENCIA ALIMENTARIA

En el cuadro 10 y la figura 7 se muestra la eficiencia alimenticia (g) de las ratonas por semana durante las 13 semanas de desarrollo de la investigación.

Cuadro 10: Eficiencia alimenticia de los ratones hembras en estudio.

SEMANA	TRATAMIENTOS		
	Chia_3	**Chia_5**	**Control**
1	0,035	0,076	0,115
2	-0,040	0,049	0,056
3	0,112	0,113	0,146
4	-0,006	-0,095	-0,114
5	0,063	0,082	0,036
6	0,166	0,021	0,076
7	-0,153	-0,048	-0,011
8	0,048	0,047	0,035
9	-0,019	0,057	0,041
10	0,008	0,014	0,006
11	0,048	-0,019	-0,034
12	-0,030	-0,077	-0,012
13	-0,043	0,020	-0,041
Promedio	**0,015**	**0,018**	**0,023**

Fuente: Investigación autor

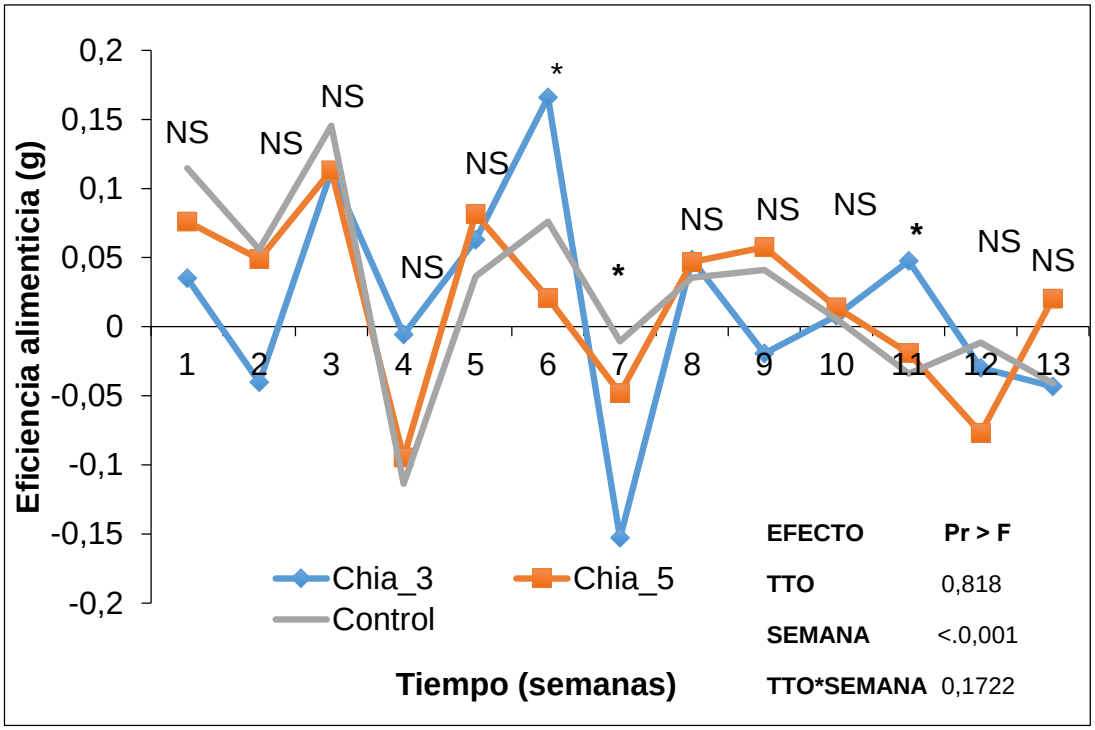

Figura 7: Eficiencia alimenticia de los ratones hembras en estudio.

La eficiencia alimenticia se observa que no hay interacción entre tratamiento con la semana (P=0,172). También se puede notar que no existe significancia entre los tratamientos (P=0,818), pero si hay significancia entre las semanas (P=<0,001).

4.4. PARÁMETROS REPRODUCTIVOS

En relación a los parámetros reproductivos, en el cuadro 11 se presentan los datos obtenidos respecto al número de crías nacidas, pesos, número de hembras y su supervivencia.

En el cuadro 11 y figura 8 se muestra el tamaño de camada de los ratones hembras en estudio de los tres ciclos reproductivos realizados durante el desarrollo de la investigación.

En el cuadro 11 y figura 9 se muestra el tamaño de las camadas durante los tres ciclos reproductivos realizados durante la investigación.

En el cuadro 11 y figura 10 se muestra el sexo de las camadas de los tres ciclos reproductivos realizados durante la investigación.

Cuadro 11: Parámetros de las crías de animales alimentados con diferentes niveles de chía.

VARIABLES	CAMADA		HEMBRAS,	SUPERVIVENCIA,
	Tamaño	Pesos	%	Animales
Tratamiento				
Control	12,0[a]	54,6	31,9	8,40
Chia_3	8,48[ab]	54,4	46,6	7,97
Chia_5	8,07[b]	42,9	47,9	7,39
Camada				
1	6,96[a]	55,8	47,8	6,96
2	12,4[b]	47,3	36,9	7,71
3	9,22[ab]	48,9	41,3	9,09
Tratamiento *Camada				
Control 1	7,45	65,7	39,6	
Control 2	15,7	40,5	21,7	
Control 3	12,9	57,7	36,3	
CHIA_ 3 1	7,00	59,2	64,4	
CHIA_ 3 2	13,3	56,6	23,1	
CHIA_ 3 3	5,11	47,1	50,4	
CHIA _5 1	6,43	41,7	39,3	
CHIA _5 2	8,11	45,0	66,7	
CHIA _5 3	9,67	41,9	37,5	
ERROR ESTANDAR DE LA MEDIA				
TTO	1,25	8,96		
CAMADA	1,07	9,28		
TTO*CAMADA	1,9	15,1		
P VALOR				
TTO	0,045	0,614	0,097	0,758
CAMADA	0,025	0,802	0,540	0,334
TTO*CAMADA	0,138	0,800	0,309	

[a, b] Medias con diferentes letras, dentro de la columna, muestran diferencias significativas (P≤0,05).

Fuente: Investigación autor

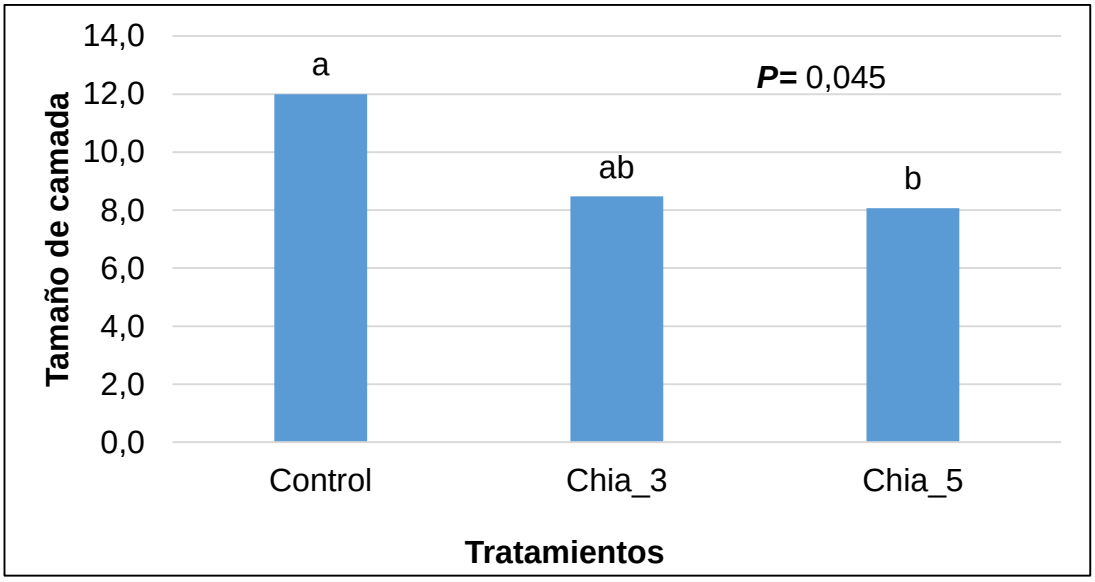

Figura 8: Tamaño de camada de los ratones. [a, b] Medias con diferentes letras, dentro de la figura, muestran diferencias significativas (P≤0,05).

Se encontró diferencias entre tratamientos (P= 0,045). Las hembras que recibieron el tratamiento control tuvieron un tamaño de camada un 48% superior a las hembras que se alimentaron con el tratamiento chía al 5%; mientars que las hembras que recibieron el tratamiento chía al 3% mostraron tamaños de camada intermedios.

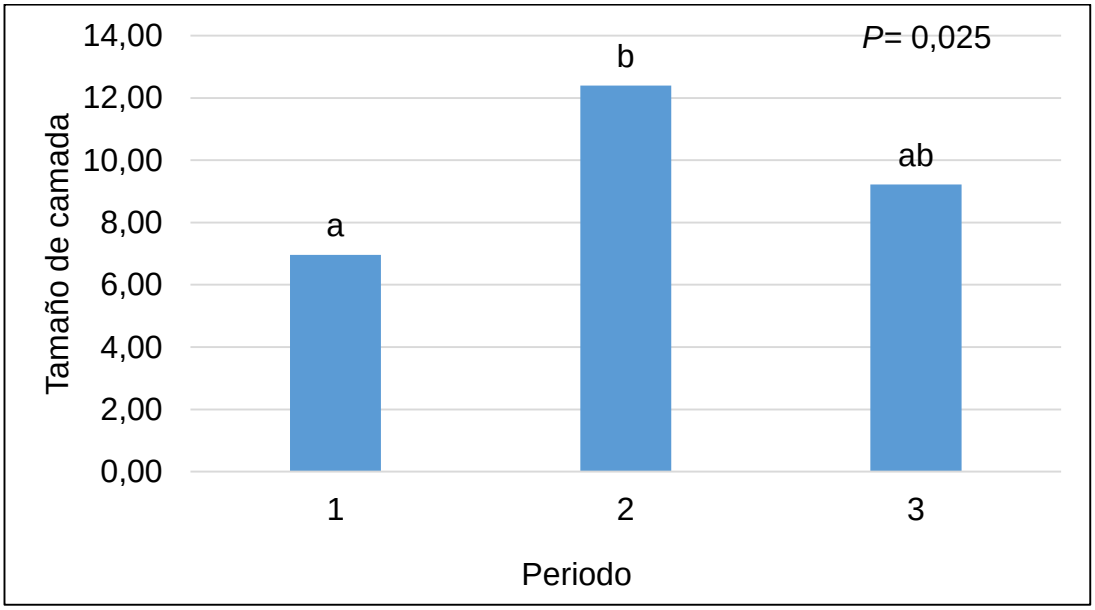

Figura 9: Tamaño de la camada durante los tres periodos reproductivos. [a, b] Medias con diferentes letras, dentro de la figura, muestran diferencias significativas (P≤0,05).

Se encontró diferencias entre periodos (P= 0,025). En el periodo uno hubo un nivel bajo del tamaño de camada y el periodo dos incremento un 78% de tamaño de camada; mientras que en el periodo tres el tamaño de la camada se mostró intermedio.

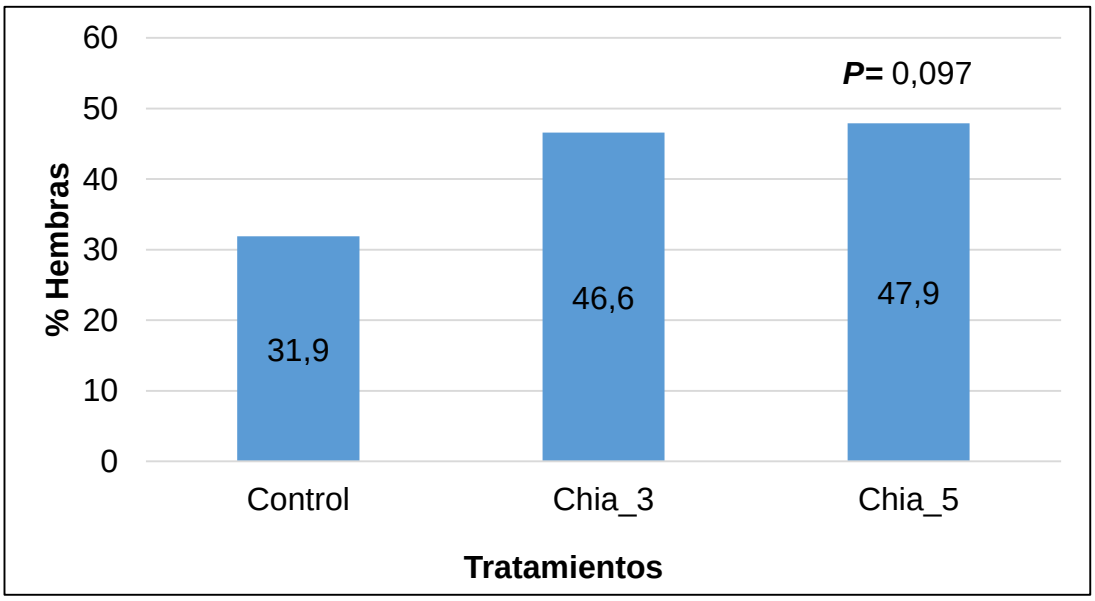

Figura 10: Sexo de las camadas

Se detectó una tendencia (P= 0,097) a que las hembras que consumieron el tratamiento control tuvieron un menor porcentaje de crías hembras mientras los tratamientos que tuvieron chia al 3% y 5% presentaron valores cercanos al 50% de hembras.

5. DISCUSIÓN

5.1. CONSUMO DE ALIMENTO, INCREMENTO DE PESO Y EFICIENCIA ALIMENTARIA

El aceite de oliva (control) provocó un efecto significativo sobre el consumo de alimento (P=0,026) e incremento de peso (P ≤ 0,009), con valores de 8 g/d y 1,1 g/d respectivamente resultados que no concuerdan con los de Reyna et al. (2016), en su investigación con ratas nodriza alimentadas con una dieta isocalórica e isoproteica y suplementadas con aceite de chía y oliva y extracto de maíz morado en la cual no observó el efectos de los mismo sobre consumo de alimento y peso final; y a los de Valenzuela et al. (2012), que no encontró diferencias en el peso y consumo de alimento en ratas a las que suministró aceite de girasol, rosa mosqueta, chía y una mezcla de aceite de oliva y pescado, pero resultado que es similar al de Pérez et al. (1998), que obtuvo un incremento en el consumo de alimento en ratas Wistar a los 28 días con el suministro de aceite de oliva crudo al 8% como suplemento a una ración base.

Los resultados obtenidos en la presente investigación podrían ser atribuidos a que el control (aceite de oliva) presento mejor palatabilidad, ya que el sabor que presenta el omega-3 (aceite chía) es menos agradable lo que pudo generar menor ingesta o a su vez por el efecto reductor del apetito que genera; otro factor al cual se alude el incremento de estos parámetros es el estado fisiológico de las hembras.

La eficiencia alimenticia no fue significativa entre tratamientos, pese a que en el tratamiento con aceite oliva hubo incremento en el consumo de alimento y peso de los animales y una disminución en los tratamientos con chía respectivamente, respuesta que desde el punto de vista nutricional se atribuye por un lado a que el consumo de aceite de oliva incremento la ingesta de alimento para satisfacer las necesidades calóricas en el organismo, mientras que el consumo de aceite de chía ejerce un efecto reductor en el apetito, lo que hace que el animal sea metabólicamente eficiente al tener la capacidad

de usar los nutrientes que se almacenan en su cuerpo en el momento adecuado cuando no ha consumido alimento.

González (2012), menciona que la disminución del peso corporal por efecto de la administración de los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 estaría relacionada con el aumento en la secreción de adiponectina, citoquina, secretada por el tejido adiposo que se asocia negativamente con el porcentaje de grasa corporal y grasa visceral y positivamente con niveles sanguíneos de leptina e insulina.

Al respecto Palomer et al. (2005), señala que este efecto se produce por un aumento en el catabolismo lipídico derivado de una estimulación de la expresión de enzimas implicadas en el transporte y el metabolismo de los ácidos grasos en el músculo esquelético y el hígado, como por ejemplo la acil-CoA oxidasa y la 5'-AMP cinasa (AMPK).

5.2. EFECTO DE OMEGA-3 SOBRE SEXO Y TAMAÑO DE CAMADA AL DESTETE

El aceite de chía al 5% tuvo un mayor número de hembras con un 47,9 % y con respeto el tamaño de camada el tratamiento control obtuvo un 12%; datos que concuerdan con Rosenfeld et al. (2003), Rosenfeld y Roberts (2004) y Baker (2005) quienes trabajaron con ratones Swiss de 10 semanas de edad donde se apreció un claro aumento en la proporción de hembras con un 52,21%; mientras que Fountain et al., (2008) en un trabajaron con ratones Swiss con una dieta a base de aceite de maíz como fuente de ácidos grasos omegas-6 y la dieta con aceite de pescado como fuente de ácidos grasos omegas-3, en la cual no observaron efecto en la proporción de sexos, datos que no concuerdan con los resultados de la presente investigación.

La composición de grasa de la dieta, especialmente los ácidos grasos, podría influir en numerosos eventos en el proceso reproductivo, incluyendo la maduración de ovocitos y el momento de la ovulación, la producción de factores quimiotácticos por el ovocito, la síntesis prostaglandina y las propiedades del tracto reproductivo, lo que podría girar en ajustar las

capacidades de fertilización relativos de X e Y-esperma o proporcionar una ventaja a conceptuses de un sexo sobre el otro durante su desarrollo (Clutton-Brock, 1986).

Además hay que tener en consideración que al restringirles el alimento, también se les está restringiendo el consumo de ácidos grasos esenciales, lo cual ha sido considerado como la causa de una baja proporción de machos y pequeños tamaños de camada en roedores (Lane 1973, Moriya y Hiroshige 1978, Zamiri 1978, Meikle y Drickamer 1986, Pratt y Lisk 1989, Meikle 1995, Krackow 1997). Otros estudios remarcan la importancia que tiene la sustitución alimentaria por alimento de mayor o menor aportación energética, o reflejan las fuentes calóricas que se tienen en la dieta y que modifican la proporción de los sexos en la descendencia, se ha visto en ratones que ante una dieta alta en energía se obtuvo en los nacimientos un 75% de machos, mientras que una dieta de menor contenido energético produjo un 46% de machos (Rosenfeld et al. 2003).

Al parecer, los suplementos de ácidos grasos de omega-6 poseen una mayor actividad para la ansiedad que los de Omega 3 (Wells 2000, Rosenfeld y Roberts 2004, Uller 2005). Tanto es así que la proporción de la distorsión de sexos es el doble de hembras que de machos empleando suplementos de omega-6, lo cual contradice los resultados que afirmaban que el ahorro de ácidos grasos poli-insaturados distorsionan el sexo hacia machos debido al alto contenido de ácido palmítico, esteárico y oleico (Fountain et al. 2008), como se ha observado en humanos, donde parece que el enriquecimiento de omega- 6 y sobre todo de omega-3, tiene un efecto en producir más hombres que mujeres (Austad 1986, Crawford 1987).

5.3. INDICES DE SUPERVIVENCIA Y PESO DE CRIAS AL DESTETE

De acuerdo a la supervivencia el grupo a base de la dieta control obtuvo un 8,40% y con un peso promedio de las camada tenemos un 50,6% la cual no hubo una diferencia significativa, datos que concuerdan con (Giacopini, 2008) realizo estudios con ratas de la cepa Sprague Dawley con un peso promedio

de 200 g que trabajaron con una dieta al 10% en los aceites de palma, girasol o pescado como fuente de ácidos grasos durante ocho semanas fue 427±12 g, y a los de (González, Fernández, & Menéndez, 1998) que trabajaron con ratas Wistar de 20 días de edad y durante un período de 70 días con un peso corporal 230- 240g que trabajo con aceite de soja y aceite de oliva al 7% no observaron diferencias significativas. Debido a que al aumentar el contenido en AGPI omega 3 antes del parto y durante la lactación puede mejorar la calidad de los ovocitos y la supervivencia de los embriones, y por consiguiente la tasa de concepción y el tamaño de la camada.

6. CONCLUSIONES

Luego de analizar y discutir los resultados producto de esta investigación, se establece las siguientes conclusiones:

- La inclusión de chía como fuente de omega 3 en las dietas de ratones de la cepa CDR51 no afecto a los parámetros productivos (consumo de alimento, incremento de peso y eficiencia alimenticia) de las madres.

- El cambio del perfil de ácidos grasos en las dietas de las madres afecto al sexo de las camadas. Con bajos niveles de omega 3 y con niveles altos en omega 9 (Tratamiento control) se obtuvo el porcentaje más bajo de hembras (31,9%) y por ende más alto de machos (68,1%); mientras que, en las dietas intermedias y altas en omega 3 (chia 3 y chia 5%), se obtuvieron proporciones similares de machos y hembras (~.50%).

- Las camadas de mayor tamaño se obtuvo cuando las madres consumieron la dieta con los niveles más bajos de omega 3 y más altos de omega 9 (Control). Un 49% mayor a las camadas de las madres que consumieron el nivel más alto de omega 3 (chia 5%).

- El suministro de diferentes niveles de omega 3 no incidió sobre la supervivencia y peso de las crías, en los diferentes tratamientos de media se obtuvo 8 crías vivas por camada y con un peso medio de 50,6 g.

7. RECOMENDACIONES

- Efectuar futuras investigaciones con diferentes porcentajes de fuentes de omega 9 que permitan corroborar los resultados sobre tamaño y peso de camada en ratones (*Mus musculus*).

- Utilizar fuentes de omega 3 de diferente origen con porcentaje similar al del presente estudio para evidenciar el efecto sobre sexo en ratones.

- Realizar nuevas investigaciones en especies de interés zootécnico utilizando estas fuentes de ácidos grasos, para determinar su efecto sobre los parámetros productivos y reproductivos.

8. BIBLIOGRAFÍA

Alessandri Agostini, Gaona Teresa. (2011). “Omega 3: e l consumo de los alimentos fuente aliviaría las sintomatología en pacientes con diagnóstico de Ojo Seco”. Instituto Universitario de Ciencias de la Salud. Fundación H.A. Barcelo.

Alexenko, A. P., Mao, J., Ellersieck, M. R., Davis, A. M., Whyte, J. J., Rosenfeld, C. S., & Roberts, R. M. (2007). “The contrasting effects of ad libitum and restricted feeding of a diet very high in saturated fats on sex ratio and metabolichormones in mice." . Biol Reprod , 77(4): 599-604.

Austad S, S. M. (1986). "Sex-ratio manipulation in the common opossum." Nature 324: 58–60.

Ayerza, R., & Coates, W. (2006). Chía, redescubriendo un olvidado alimento de los aztecas. Buenos Aires.

Baker, D. H. (2005). "Comparative nutrition and metabolism: explication of open questions with emphasis on protein and amino acids." Proc Natl Acad Sci U S A102 (50): 17897-17902.

Bird, E. and R. J. Contreras (1986). "Maternal dietary sodium chloride levels affect the sex ratio in rat litters." Physiol Behav36 (2): 307-310.

Calvo, M. (2004). *Bioquímica de los Alimentos.* Recuperado el 2016, de http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/lipidos/acidosgrasos.html

Carter, A. M. M., A (2007). "Evolution of the Placenta in Eutherian Mammals." Placenta28: 259-262.

Cedeño, E. (2013). Formulación, elaboración y control de calidad de un alimento balanceado para ratones de experimentación (*Mus musculus*) del bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la ESPOCH (Tesis de Grado). Escuela Superior Politécnica De Chimborazo. Facultad De Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba, Ecuador.

Clutton-Brock, T. H. (1986). "Sex ratio variation in mammals.". Q Rev Biol, 61(3): 339-374.

Crawford, M. A. D., W. Meadows, N. (1987). "Gender differences at birth and differences in fetal growth." Reproduction2 (6): 517-520.

Díaz Hernández Verónica y Merchant Larios Horacio (2008). Bases moleculares de la determinación sexual en mamíferos. Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México.

Di Sapio Osvaldo, Bueno Mirian, Busilacchi Héctor, Severin Cecilia (2008). Chía: Importante Antioxidante Vegetal. Revista agromensajes de la Faculta.

Fountain, E. D., J. Mao, J. J. Whyte, K. E. Mueller, M. R. Ellersieck, M. J. Will, R. M. Roberts, R. Macdonald and C. S. Rosenfeld (2008). "Effects of diets enriched in omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids on offspring sexratio and maternal behavior in mice." Biol Reprod78 (2): 211-217.

Fuentes, P. F., Mendoza, Y. R., Rosales, F. A., & Cisneros, T. R. (2008). Guía de Manejo y Cuidado de Animales de Laboratorio: Ratón. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.

Galassi Geréz, Paola F. y Gullace , Federico A. (2014). Reproducción en animales de laboratorio. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Buenos Aires.

Garcés, Y. J. (2013). *La chía (salvia hispanica L.), una fuente de nutrientes para el desarrollo de alimentos saludables*. Obtenido de http:// repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/1043/1/La_chia_salvia_hispanica_L_desarrollo_alimentos_saludables.pdf

Giacopini, M. I. (Junio de 2008). *Scielo*. Obtenido de Scielo: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-07522008000100004

Gliozzi, T., Zaniboni, L., Maldjian, A., Luzi, F., Maertens, L., & Cerolini, S. (2009). Quality and lipid composition of spermatozoa in rabbits fed DHA and vitamin E rich diets. En *Theriogenology.* (págs. 71(6): 910-9.).

González Périz Ana (2009). Efectos protectores de los ácidos grasos omega-3 en el hígado y en el tejido adiposo. Tesis Doctoral. Universidad de Barcelona. Faculta de Medicina.

Herrera, M., Vega, S. y., Gutiérrez, T. R., & Gilberto, G. F. (2006). Los Ácidos Grasos Omega-3 Y Omega-6: Nutrición, Bioquímica Y Salud. 72-79.

Jensen, C., & Lapillonne, A. (2009). Docosahexaenoic acid and lactation. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 81 (2-3): 175-8.

Jones, M., Mark, P., & Waddell, B. (2014). Maternal dietary omega-3 fatty acids and placental function. *Reproduction*, 147 (5): R143-R152.

Krackow, S. (1997). "Effects of mating dynamics and crowding on sex ratio variance in mice." J Reprod Fertil110 (1): 87-90.

Kwong, W. Y. W., Arthur E. Roberts, Paul. Willis, Antony C. Fleming, Tom P. (2000). "Maternal undernutrition during the preimplantation period of rat development causes blastocyst abnormalities and programming of postnatal hypertension." Development127: 4195-4202.

Lane, E. A. H., Thomas S. (1973). "Effect of maternal stress on fertility and sex ratio: A pilot study with rats." Journal of Abnormal Psychology 82(1).

Lozano, J., Segura, A., & Gutiérrez, A. (2007). Composición del aceite de oliva. Obtenido de http://www.economiaandaluza.es/sites/default/files /capitulo %207_0.pdf

Martin GB, Milton JT, Davidson RH, Banchero Hunzicker GE, Lindsay DR, Blache D.(2004). Natural methods for increasing reproductive efficiency in small ruminants. Anim Reprod Sci. Pág. 82-83:231-45.

Martínez, M. (1959). *Plantas útiles de la Flora Mexicana. DF México.*

Meikle, D. B. (1995). "Adult male house mice born to undernourished mothers are unattractive to oestrous females." Animal Behaviour50: 753–758.

Meikle, D. B. and L. C. Drickamer (1986). "Food availability and secondary sex ratio variation in wild and laboratory house mice (Mus musculus)." J Reprod Fertil78 (2): 587-591.

McMillen, I. C., & Robinson, J. S. (2005). "Developmental origins of the metabolic syndrome: prediction, plasticity, and programming.". *PhysiolRev*, 85(2): 571-633.

Morassi, N. (2008). *Importancia de las.* Recuperado el 15 de Enero de 2016, de http://www.gcguy.com/goddard_impsemillasenalimentacion.pdf

Moreiras Olga, Carbajal Ángeles, Cabrera Luisa y Cuadrado Carmen (2013). Tablas de composición de alimentos. Editorial Pirámide (16º ed. revisada y ampliada).

Moreno, J. (2010). Evaluación de los Ácidos Grasos Omega-3 y Omega-6 presentes en alimentos enriquecidos que se expenden en los supermercados de Riobamba (Tesis de Grado). Escuela Superior Politécnica De Chimborazo. Facultad De Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba, Ecuador.

Moriya, K. and T. Hiroshige (1978). "Sex ratio of offspring of rats bred at 5 degrees C." Int J Biometeorol22 (4): 312-315.

Ortiz, C. M. (2010). *La importancia de los omega 3*. Obtenido de http://veterinariaortomolecular.com/los-acidos-grasos-omega-3-para-animales/

Oteros, J. (2014). En *"Modelización del ciclo fenológico reproductor del olivo (Tesis Doctoral)".* Córdoba: Universidad de Córdoba.

Palomer, J., Pérez, A., & Blanco, F. (2005). Adiponectina: un nuevo nexo entre obesidad, resistencia a la insulina y enfermedad cardiovascular. Barcelona, España.

Papa, F., R. Henrion and G. Breart (1983). "[Preconceptional selection of sex using the ionic method. Dietary regime. Results of a 2 years' prospective clinical study]." J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)12(4): 415-422

Pérez-Granados, A. M., Vaquero, M. P., y Navarro, M. P., (1998). Ingesta y evolución ponderal de ratas alimentadas con diferentes aceites crudos y fritos. Instituto de Nutrición y Bromatología (CSIC). Facultad de Farmacia, Universidad Complutense. Ciudad Universitaria. 28040 Madrid. Vol. 49. Fase. 2 (1998), 177-185.

Pratt, N. C. and R. D. Lisk (1989). "Effects of social stress during early pregnancy on litter size and sex ratio in the golden hamster (Mesocricetus auratus)." J Reprod Fertil87 (2): 763-769.

Reyna, S., Gonzáles, C., Valenzuela, R., & Villanueva, M. E. (2016). Efecto del extracto de maíz morado sobre la expresión génica de srebp-1, Δ5d y Δ6d en glándula mamaria de ratas nodrizas suplementadas con aceite de chía (Salvia Hispánica L.). Rev Chil Nutr Vol. 43, Nº3, 296-297.

Rivers, J. C., Ma. (1974). "Maternal nutrition and the sex ratio at birth." nature252: 297 - 298.

Rodríguez Cruz Maricela, Tovar Armando, Del Prado Martha, Torres Nimbe (2005). “Mecanismos moleculares de acción de los ácidos grasos poliinsaturados y sus beneficios en la salud”. Revista de investigación clínica *Scielo*, Vol. 57 N°.3 México.

Rosenfeld, C. S., Grimm, K. M., Livingston, K. A., Brokman, A. M., Lamberson, W. E., & Roberts, R. M. (2003). "Striking variation in the sex ratio of pups". *Proc Natl Acad Sci U S A*, 100(8): 4628-4632.

Rosenfeld, C. S. and R. M. Roberts (2004). "Maternal diet and other factors affecting offspring sex ratio: a review." Biol Reprod71 (4): 1063-1070.

Sartori, R. T. (2009). *Aspectos nutricionais relacionados à reprodução.* Obtenido de Factores Nutricionales que Afectan el Desempeño en Programas Reproductivos en Bovinos de Carne y de Leche.

Schlager, G. R., T. (1968). "Secondary Sex Ratio in Mice." J. Hered.59: 363–365.

Til, H. P. F., V.J. de Groot, A.P. (1971). "The toxicity of sulphite. I. Long-term feeding and multigeneration studies in rats." Food and Cosmetics Toxicology10 (3): 291–310.

Tove, S. B. (1959). Revista Científica. “Cinética de la disminución de ácido linoléico en ratones”. New Delhi - India. Indian Journal Biochemistry and Biophysics., N° 85, p. 352-365.

Uller, T. M., S. De Fraipont, M. Clobert, J. (2005). "Is sexual dimorphism affected by the combined action of prenatal stress and sex ratio?” Exp Zoolog A Comp Exp Biol 303: 1110–1114.

Valenzuela B. Rodrigo, Tapia O. Gladys, González E. Marcela Valenzuela B. Alfonso (2011). Ácidos Grasos Omega-3 (EPA Y DHA) y su aplicación en diversas situaciones clínicas. Rev. Chil. Nutr. Vol.38 No.3

Valenzuela , R., Gormáz, J., Masson, L., Vizcarra, M., Cornejo, P., & Valenzuela, A. (2012). Evaluation of the hepatic bioconversion of alpha-linolenic acid (ALA) to eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) in rats fed with oils from chia (Salvia hispanica) or rosa mosqueta (Rosa rubiginosa). GRASAS Y ACEITES Volume: 63 Issue: 1, 61-69.

Waterland, R. A., D. C. Dolinoy, J. R. Lin, C. A. Smith, X. Shi and K. G. Tahiliani (2006). "Maternal methyl supplements increase offspring DNA methylation at Axin Fused." Genesis44 (9): 401-406.

Wells, J. C. (2000). "Natural selection and sex differences in morbidity and mortality in early life." J Theor Biol202 (1): 65-76.

Zamiri, M. J. (1978). "Effects of reduced food intake on reproduction in mice." Aust J Biol Sci31 (6): 629-639.

9. ANEXOS

ANEXO 1: Registros de alimentación

	#	ALIMENTACIÓN		
		FECHA	FECHA	FECHA
TRATAMIENTO	1			
	2			
	3			
	4			
	5			
	6			
	7			
	8			
	9			
	10			
	11			
	12			
	13			
	14			
	15			

ANEXO 2: Registros de peso de los ratones hembras

		ALIMENTACIÓN			
	#	FECHA		FECHA	
		Pesa	Sobra	Pesa	Sobra
TRATAMIENTO	1				
	2				
	3				
	4				
	5				
	6				
	7				
	8				
	9				
	10				
	11				
	12				
	13				
	14				
	15				

ANEXO 3: **Registro de empadre**

TRATAMIENTO	#	EMPADRE			
		Nacimiento	Empadre	Nacimiento	Empadre
	1				
	2				
	3				
	4				
	5				
	6				
	7				
	8				
	9				
	10				
	11				
	12				
	13				
	14				
	15				

ANEXO 4: **Registro de sexaje y supervivencia de las camadas**

TRATAMIENTO	#	SEXAJE Y SUPERVIVENCIA				PESO DESTETE CAMADA
		# Crías		Sexo		
		Vivos	Muertos	Machos	Hembras	
	1					
	2					
	3					
	4					
	5					
	6					
	7					
	8					
	9					
	10					
	11					
	12					
	13					
	14					
	15					

Foto 1: Desinfección de los equipos

Foto 2: Colocación de cama

Foto 3: Manejo de los ratones

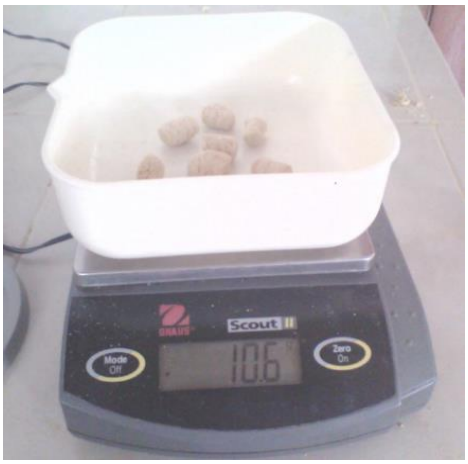

Foto 4: Pesaje de alimento

Foto 5: Conformación de los grupos experimentales

Foto 6: Suministro de la dieta experimental

Foto 7: Destete de la camada

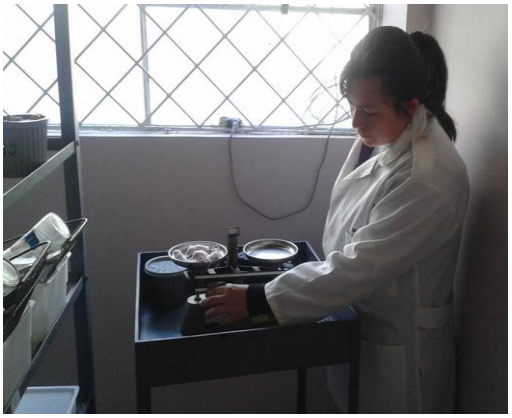

Foto 8: Peso de la camada al destete

Foto 9: Identificación del sexo de las camadas