

# EFFECTO DE LA SUPLEMENTACION CON PROTEINA NO DEGRADABLE EN EL RUMEN Y LA CONDICION CORPORAL SOBRE LAS CONCENTRACIONES SERICAS DE INSULINA Y LA ACTIVIDAD OVÁRICA EN CABRAS

C. A. Meza Herrera<sup>1,3</sup>, J. M. Sánchez Sánchez<sup>1</sup>, A. Lorenzo Rojas<sup>1</sup>,  
J. G. Chávez Perches<sup>2</sup>, H. Salinas González<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Unidad Regional Universitaria de Zonas Aridas. Universidad Autónoma Chapingo. A. P. 8, Bermejillo, Durango. México. 35230. e-mail: [meza2000@hotmail.com](mailto:meza2000@hotmail.com)

<sup>2</sup>Gabinete de Radiodiagnóstico y Ultrasonografía.

<sup>3</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias

**RESUMEN.** El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la suplementación con proteína no degradable en el rumen y la condición corporal sobre la actividad ovárica y las concentraciones séricas de insulina (INS) y determinar su posible relación en cabras de la Comarca Lagunera. El estudio se llevó a cabo durante los meses de Agosto y Septiembre en la Unidad de Investigación Caprina Sur de la URUZA-UACH, localizada entre los 25° LN y 103° LO, a 1, 117 msnm. Cabras con 19 meses de edad, con una calificación de condición corporal (CCC) baja (CCB, n=16, 28.81±0.72 kg PV) o alta (CCA, n=16, 35.12±0.72) recibieron uno de dos niveles de suplementación de proteína (NSP): Sin proteína (SP 0 g cabra d<sup>-1</sup>) o Con proteína (CP, 103.95 g cabra d<sup>-1</sup>) durante 40-d pre y 14-d postovulación, bajo condiciones de fotoperiodo natural. Las cabras recibieron una dieta basal de heno de alfalfa (2.0% PV, 14.6% de PC), agua y sombra. Una vez sincronizadas con dos dosis de PGF<sub>2α</sub> a intervalos de 11 d, la actividad ovárica fue evaluada mediante rastreo ultrasonográfico transrectal durante la fase lútea tardía del segundo ciclo estral, considerando el número total de folículos (FT) y cuerpos lúteos (CLT). Durante la fase folicular previa al segundo ciclo estral, se realizó un muestreo sanguíneo para cuantificar las concentraciones de INS. Mientras que la CC afectó (P<0.05) el CLT, favoreciendo al grupo en CCA, (2.81±0.20 vs 1.87±0.20), no existieron diferencias (P>0.05) entre CC con respecto a FT (2.43±0.25 vs 2.18±0.25). El NSP afectó la expresión de CL y FT, en favor de las cabras suplementadas, 2.62±0.21 vs 2.06±0.21 y 2.68±0.25 vs 1.93±0.25, respectivamente. Mientras que las cabras en CCA mostraron los mayores niveles de INS, 1.92±0.17 vs 0.81±0.17 ng ml<sup>-1</sup>, las cabras suplementadas mostraron los mayores niveles de INS con respecto a las no suplementadas, 1.69±0.17 vs 1.04±0.17 ng ml<sup>-1</sup>, respectivamente. Se observó una correlación positiva entre los niveles séricos de INS con respecto a CL (r=0.46; P<0.06) y FT (r=0.38; P<0.13).

**Palabras clave:** Cabras, proteína no degradable en rumen, condición corporal, insulina, actividad ovárica

**SUMMARY.** The aim of this study was to evaluate the effect of by-pass protein supplementation and body condition upon ovarian activity as well as serum insulin (INS) concentrations and to determine their possible relationship in goats of the Comarca Lagunera. The study was developed during the months of August and September at the Southern Goat Research Unit, located between the 25° NL and 103° WL, at 1,117 m. Goats, 19 months old, with a body condition score (CCC) low (CCB, n=16, 28.81±0.72 kg BW) or high (CCA, n=16, 35.12±0.72 kg) received one of two protein supplementation level (NSP): Without protein (SP 0 g goat d<sup>-1</sup>) or With protein (CP, 103.95 g goat d<sup>-1</sup>) during 40-d pre and 14-d postovulation, under natural photoperiod conditions. Goats received a basal diet of alfalfa hay (2.0% BW, 14.6% CP), mineral salts, water and shades. Once synchronized with two PGF<sub>2α</sub> doses at 11 d interval, ovarian activity was evaluated by transrectal ultrasonographic scanning during the late luteal phase of the second estrous cycle, considering the total number of follicles (FT) and corpus luteum (CLT). During the follicular phase prior to the second estrus, a blood sample was performed in order to quantify serum INS concentrations. While CC affected (P<0.05) CLT, favoring to the CCA group, (2.81±0.20 vs 1.87±0.20), there were no differences (P>0.05) between CC with respect to FT (2.43±0.25 vs 2.18±0.25). The NSP affected the expression of both CL and FT, favoring to the supplemented goats 2.62±0.21 vs 2.06±0.21, and 2.68±0.25 vs 1.93±0.25, respectively. While the CCA goats had the largest serum INS levels, 1.92±0.17 vs 0.81±0.17 ng mL<sup>-1</sup>, the supplemented goats depicted the largest serum INS levels with respect to the non supplemented goats. There was observed a positive correlation of serum INS levels with respect to CLT (r=0.46; P<0.06) and FT (r=0.38; P<0.13).

**Key words:** Goats, by-pass protein, body condition, insulin, ovarian activity

## INTRODUCCIÓN

Las observaciones hechas en fauna silvestre demuestran que la reproducción se da en la época del año en que hay una mayor disponibilidad de alimento, advirtiéndose la misma tendencia en rumiantes (Aleksiev *et al.*, 1988).

La cabra, al igual que la oveja y contrario a la vaca, tiene el potencial de presentar ovulaciones múltiples, pero esta habilidad puede ser afectada por una nutrición inadecuada. Mientras que los efectos de una sobrealimentación por más de tres semanas sobre la tasa ovulatoria son mediados mediante una mejora en

la condición corporal, con periodos cortos de sobrealimentación los efectos de la nutrición modifican directamente las secreciones hormonales, sin alterar significativamente la condición corporal o el peso vivo.

Una malnutrición en general y en particular una carencia de proteína se caracterizan tanto en humanos como en roedores por una baja en insulina plasmática basal junto con bajos niveles de glucosa (Picarel – Blanchot *et al.*, 1995). Los animales en balance energético negativo se caracterizan por bajos niveles sanguíneos de insulina, (Whitaker *et al.*, 1993). Estudios realizados en ratas han mostrado que la insulina puede estimular la liberación de GnRH (Arias *et al.*, 1992).

Por otro lado, cambios en los niveles de insulina inducidos por modificaciones en el nivel de alimentación están estrechamente relacionados con las concentraciones de IGF-1 e IGF-2 y un incremento en los niveles de IGF-1 aumenta la capacidad esteroideogénica y de crecimiento de los folículos ováricos (Spicer, *et al.* 1993). El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la suplementación con proteína no degradable en el rumen y la condición corporal sobre la actividad ovárica y las concentraciones séricas de insulina y determinar su posible relación.

## MATERIAL Y METODOS

**Localización del área.** La presente investigación se llevó a cabo en la Unidad de Investigación Caprina Sur, en la Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas de la Universidad Autónoma Chapingo, localizada en el municipio de Tlahualilo a 3km de Bermejillo, Dgo. Esta unidad se encuentra en las coordenadas UTM 639935 E y 2864331 N (Universal Transversa Mercator), correspondiendo a las coordenadas geográficas 103° 36' 11" de Longitud Oeste del meridiano de Greenwich y entre los 25° 53' 32" de Latitud Norte, con una altura de 1117 msnm., el clima es seco semidesértico extremo (Hernández, 1997). La temperatura media anual es de 20° C, con dos épocas definidas: la primera comprende de abril a octubre, con una temperatura media mensual superior a 20° C, y la segunda de noviembre a marzo, con rangos mensuales entre los 13.6° C y 19.4° C.

**Formación de grupos experimentales.** Con el objeto de formar grupos experimentales con condición corporal y pesos vivos divergentes, la dieta ofrecida a las cabras durante el periodo de adaptación consideró: las 16 cabras más pesadas recibieron 1 Kg. de alfalfa henificada por cabra por día, y las 16 cabras menos pesadas además de la alfalfa henificada (0.6 Kg. / cabra / día) recibieron 100 g de maíz rolado. Dicha ración de maíz

fue incrementada gradualmente en un lapso de 6 semanas hasta llegar a los 200 g de maíz por cabra por día. Una vez conformados los grupos de baja y alta condición corporal la dieta basal consistió de heno de alfalfa molida, ofreciendo en forma respectiva un 70% y un 100% de los requerimientos nutricionales a los grupos de baja y alta condición corporal (NRC, 1981). Tanto los pesos vivos como la CC fueron evaluadas semanalmente.

**Diseño de tratamientos.** Cabras con 19 meses de edad, con una calificación de condición corporal (CCC) baja (CCB, n=16, 28.81±0.72 kg PV) o alta (CCA, n=16, 35.12±0.72) recibieron uno de dos niveles de suplementación de proteína (NSP): sin proteína (SP 0 g cabra d<sup>-1</sup>) o con proteína (CP, 103.95 g cabra d<sup>-1</sup>) durante 40-d pre y 14-d postovulación, bajo condiciones de fotoperiodo natural. Las cabras recibieron una dieta basal de heno de alfalfa (2.0% PV, 14.6% de PC), agua y sombra durante todo el periodo experimental (55 d), y una dieta basal de heno por la mañana y suplementación por la tarde.

**Muestreo sanguíneo intensivo.** Un día posterior a la segunda aplicación de cloprostenol sódico en forma aleatoria fueron seleccionadas 16 cabras y a cada una de ellas se realizó un muestreo de sangre para medir las concentraciones séricas de insulina. Las muestras sanguíneas fueron colectadas de cada cabra mediante venopunción en la arteria yugular utilizando agujas estériles de 0.8x38mm (Becton Dickinson and Company, Franklin Lakes) y tubos colectores estériles Vacutainer de 10 ml<sup>-1</sup> (Corvac, Sherwood Medical, St. Louis, Mo), por un periodo de 6 horas a intervalos de 60 minutos. En total se colectaron 7 muestras por cabra, 28 muestras por tratamiento, con un total de 112 muestras originales de suero. Todas las muestras de suero colectadas durante el muestreo sanguíneo fueron evaluadas por su contenido de insulina mediante radioinmunoanálisis según los procedimientos señalados por Hoefler y Hallford (1987).

**Sincronización del estro.** Durante la fase experimental, 29 días después de iniciados los tratamientos, las cabras fueron estrualmente sincronizadas mediante la aplicación de una dosis de 0.9 ml de cloprostenol sódico (Celosil<sup>®</sup>). Dicho fármaco es una prostaglandina sintética análoga, estructuralmente relacionada a la prostaglandina F<sub>2</sub>μ, aunque su actividad luteolítica está aumentada. La segunda aplicación de cloprostenol se realizó 11 días después de la primera.

**Análisis ultrasonográfico de la actividad ovárica.** Previo al análisis ultrasonográfico, las cabras fueron

colocadas en una mesa de recumbencia dorsal, y sujetadas a la mesa de los miembros anteriores y posteriores. El análisis ultrasonográfico transrectal consideró el uso de un equipo Toshiba Medical System, Ltd, Crawley, UK con un transductor lineal de 7.5 Mhz para uso veterinario. Se aplicó gel obstétrico (Lubrel, Arnolds Veterinary Products, Ltd, USA) al transductor, el cual se colocó dentro de un guante de látex esteril aplicando nuevamente gel obstétrico fuera del guante como lubricante. El transductor se introdujo en el recto del animal, avanzándose hasta la línea media del recto, con el rastreado dirigido hacia la parte ventral del animal hasta que la vejiga y el útero fueron identificados (Griffin y Ginther, 1992). Una vez localizadas ambas estructuras, se realizaron una serie de rotaciones bilaterales, mientras que el transductor fue movido en dirección caudal hasta que ambos ovarios fueron localizados. El número de folículos mayores y menores a 5 mm., folículos totales y número de cuerpos lúteos totales presentes en cada ovario, fueron registrados así como fotografiados.

**Análisis estadístico.** Los pesos corporales, número de folículos (FT), cuerpos lúteos (CLT), y la actividad ovárica (FT + CLT), fueron evaluados mediante un ANOVA dentro de un diseño completamente al azar con un arreglo factorial de tratamientos 2x2 (Snedecor y Cochran, 1967). Los datos de insulina fueron analizados como un diseño completamente al azar con arreglo de parcelas divididas para mediciones repetidas en el

tiempo (Gill and Hafs. 1971). Todos los análisis consideraron los procedimientos SAS (Littell *et al.*, 1991).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 1 se muestra las medias de mínimos cuadrados para peso vivo (PV, kg.), folículos totales (FT, número), cuerpos lúteos totales (CLT, número), actividad ovárica total (AOT, número) en cabras consumiendo dos niveles de proteína no degradable en el rumen y en condición corporal baja y(o) alta bajo fotoperíodos decrecientes en la Comarca lagunera (25° LN). Al inicio y al final del periodo experimental las cabras del grupo de CCB pesaron menos ( $P < 0.001$ ) que las cabras en CCA. En el mismo sentido, el peso vivo al momento del análisis de ultrasonido difirió ( $P < 0.001$ ) entre condiciones corporales favoreciendo a las cabras con CCA. El peso de los animales suplementados con PNDP al comienzo y al término del experimento fueron similares ( $P > 0.05$ ) a los no suplementados.

Existieron diferencias ( $P < 0.05$ ) dentro de CC con respecto a CL, favoreciendo al grupo en CCA,  $2.81 \pm 0.20$  vs  $1.87 \pm 0.20$ . Sin embargo, no existieron diferencias ( $P > 0.05$ ) entre CC con respecto a FT ( $2.43 \pm 0.25$  vs  $2.18 \pm 0.25$ ). Contrario a lo anterior, el NSP afectó ( $P < 0.05$ ) la expresión de CL y FT, a favor de las cabras suplementadas por el orden de  $2.62 \pm 0.21$  vs  $2.06 \pm 0.21$  y  $2.68 \pm 0.25$  vs  $1.93 \pm 0.25$ , respectivamente.

**Cuadro 1.** Medias de mínimos cuadrados para peso vivo (PV, kg), folículos totales (FT, número), cuerpos lúteos totales (CLT, número), actividad ovárica total (AOT, número) en cabras consumiendo dos niveles de proteína no degradable en el rumen y en condición corporal baja y (o) alta, bajo fotoperíodos decrecientes en la Comarca lagunera (25° LN)

Variables	Condición corporal				Nivel de proteína <sup>1</sup>			
	Baja	Alta	$\infty$	ES <sup>2</sup>	Sin	Con	$\infty$	ES <sup>2</sup>
PV	28.78	38.46	0.001	1.02	32.56	34.68	0.35	6.37
FT	2.18	2.43	0.49	0.25	1.93	2.68	0.045	0.25
CLT	1.87	2.81	0.003	0.20	2.06	2.62	0.066	0.20
AOT	4.06	5.25	0.012	0.31	4.00	5.31	0.006	0.31

<sup>1</sup> Nivel de proteína: Sin (0 g cabra d<sup>-1</sup>), Con (103.95 d cabra d<sup>-1</sup>)

<sup>2</sup> ES, error estándar de medias de mínimos cuadrados más conservador

En el Cuadro 2 se concentran las medias de mínimos cuadrados para peso vivo (PV, kg), actividad ovárica total (AOT, número) y concentraciones de insulina en suero (INS, ng ml<sup>-1</sup>) en cabras consumiendo dos niveles de proteína no degradable en el rumen y en condición corporal baja y (o) alta bajo fotoperíodos decrecientes

en la Comarca lagunera (25° LN). El nivel sérico de insulina favoreció a las cabras en CCA,  $1.92 \pm 0.17$  vs  $0.81 \pm 0.17$  ng ml<sup>-1</sup>, así como al grupo CP,  $1.69 \pm 0.17$  vs  $1.04 \pm 0.17$  ng ml<sup>-1</sup>, mostrando una correlación positiva ( $r=0.46$ ;  $P < 0.06$ ) con CL y ( $r=0.38$ ;  $P < 0.13$ ) con FT.

**Cuadro 2.** Medias de mínimos cuadrados para peso vivo (PV, kg), actividad ovárica total (AOT, número) y concentraciones de insulina en suero (INS, ng mL<sup>-1</sup>) en cabras consumiendo dos niveles de proteína no degradable en el rumen y en condición corporal baja y (o) alta bajo fotoperiodos decrecientes en la Comarca lagunera (25° LN)

Variables	Condición corporal				Nivel de proteína <sup>1</sup>			
	Baja	Alta	∞	ES <sup>2</sup>	Sin	Con	∞	ES <sup>2</sup>
PV	28.78	38.46	0.001	1.02	32.56	34.68	0.35	6.37
AOT	4.06	5.25	0.012	0.31	4.00	5.31	0.006	0.31
INS	0.81	1.93	0.0008	0.18	1.04	1.69	0.023	0.18

<sup>1</sup> Nivel de proteína: Sin (0 g cabra d<sup>-1</sup>), Con (103.95 d cabra d<sup>-1</sup>)

<sup>2</sup> ES, error estándar de medias de mínimos cuadrados más conservador

El nivel de suplementación de PNDR afectó FT, sin embargo la CC no afectó dicha variable. Se sabe que desarrollo folicular se controla principalmente por acción coordinada de las gonadotropinas (Campbell *et al.*, 1995). Gong *et al.* (1993), demostraron que sin la liberación pulsátil de LH el desarrollo folicular podía llevarse a cabo pero se detenía cuando el folículo dominante alcanzaba los 7-9 mm de diámetro, y cuando se suprimían los niveles de FSH, este crecimiento se detenía cuando alcanzaban un diámetro de 4 mm. Por lo tanto, el desarrollo folicular depende del estímulo constante de las gonadotropinas, por lo que cambios en la secreción de las mismas debido a cambios nutricionales pueden comprometer el desarrollo folicular.

Se ha demostrado que los primeros estadios de diferenciación y división de las células de la granulosa de los folículos primordiales, son independientes de las gonadotropinas (Hernández, 2001), lo cual puede explicar, en parte, porque un cambio en la condición corporal parece no afectar el número de folículos totales, pero pudiera afectar el número de folículos *antrales* (> 5 mm Sin embargo un reducción en el número de folículos pequeños pudo observarse en condición de desnutrición extrema (Gutierrez, 1992). Rhind y McNeilly (1986) observaron mayores tasas de ovulación en ovejas con buena condición corporal donde el número de folículos grandes (>4 mm) era más alto que en ovejas en condición corporal baja, aunque ambas mostraban igual número de folículos pequeños.

En el ganado productor de carne, el diámetro del folículo preovulatorio disminuye cuando los animales pierden peso (Murphy *et al.*, 1991). En los trabajos de Murphy *et al.* (1991) y Spicer *et al.* (1991) en los cuales el folículo disminuía su diámetro, el número de folículos >5 mm no se alteró por la pérdida de peso. En contraste, en novillonas que ganaban peso se observó un incremento

en el diámetro del folículo mayor (Murphy *et al.*, 1991; Spicer *et al.*, 1991).

En el presente estudio se encontró un efecto por parte de la suplementación con proteína de sobrepaso sobre el número de folículos totales. Recientemente, con el uso de ultrasonografía, se ha establecido que el desarrollo folicular en animales se caracteriza por un recambio continuo de oleadas foliculares. Cada oleada implica el crecimiento simultáneo de un conjunto de folículos *antrales*, provenientes de un grupo de folículos <5 mm de diámetro. Una vez ocurrida la selección de uno de ellos, crece para convertirse en un folículo dominante, mientras que el resto sufre atresia. El folículo seleccionado continúa su crecimiento alcanzando un diámetro cercano a los 15 mm, conservando su tamaño máximo por dos o tres días antes de su regresión y el surgimiento de una nueva oleada de desarrollo folicular (Gong y Webb, 1996).

La nutrición parece afectar a la secreción de gonadotropinas y particularmente a la frecuencia de pulsos de LH, previniendo la maduración final del folículo potencialmente ovulatorio. Las concentraciones de FSH no se ven influenciadas por el estado nutricional. No obstante la concentración y frecuencia de los pulsos de LH parecen disminuir cuando los animales son sometidos a dietas subóptimas (Gutierrez, 2001). Lo anterior sugiere que cuando un animal es suplementado con PNDR se promueve la expresión de un mayor número de folículos *antrales* por medio de la manutención adecuada en la concentración y frecuencia en los pulsos de LH. Por el contrario, cuando los niveles de proteína que ingiere la cabra son bajos, esto se reflejará en un menor número de folículos *antrales*, escenario fisiológico que pudo haber ocurrido en el presente estudio.

Por otro lado, la CC y el NP afectaron el número de CLT. Cuando se comparan rumiantes no lactantes, con lactantes, éstos muestran un balance energético más

pobre, que se refleja en niveles sanguíneos menores de glucosa, insulina e IGF-I y mayores de ácidos grasos no esterificados (de la Sota *et al.*, 1993). El balance energético negativo de los animales en lactancia se acompaña por un número menor de folículos, indicando que el balance energético reduce el número de folículos pequeños que continúan su desarrollo (De la Sota *et al.*, 1993).

Otros estudios han encontrado que balances energéticos menores en vacas lactando son asociados con un mayor de folículos pequeños (3-5 mm) y medianos (6-9 mm) (Lucy *et al.*, 1991). Más aún, la tasa de crecimiento del folículo preovulatorio fue menos en animales con dietas bajas en energía comparado con animales con dietas altas en energía (Murphy *et al.*, 1991). Lo anterior sugiere que aún cuando la CC no afectó los FT, éste efecto si pudo verse reflejado en los folículos ovulados. Lo anterior puede deberse a que la cabra pudo o no cubrir las demandas por parte de los folículos próximos a ovular; este similar efecto pudo observarse para NP aunque menor, esto puede sugerir que al momento del pico preovulatorio en este estudio el efecto estático del "flushing" puede ser más importante que el dinámico. Ante esto se sugiere un estudio posterior en el que se incluyan mayores cantidades de PNDR en dieta, ya que puede ser que 103.95 g de PNDR no sean suficientes para afectar de una manera altamente significativa los CLT, pero si una cantidad mayor. La AOT (FT +CLT) fue afectada por la CC como por el NP, el efecto que tuvo la suplementación con proteína fue mayor comparado con la CC.

Las concentraciones de insulina en sangre fueron afectados por la CC y el NP. Se conoce que la proteína suministrada en alimentos es un potente estimulador de la secreción de insulina (Petters y Mayer, 1993). Muturi *et al.* (2002) evaluaron el efecto de una dieta baja y alta en proteína protegida contra el rumen (65 g y 200 g respectivamente) sobre glucosa, IGF-I e insulina en plasma. No hubo efectos ( $P > 0.05$ ) de la dieta sobre las concentraciones plasmáticas de IGF-I. Las concentraciones de glucosa fueron diferentes ( $P < 0.05$ ) entre dietas bajas y altas en proteína al minuto 60, 90 y 120 postalimentación ( $P \leq 0.05$ ), sin embargo en todo el periodo de muestreo no hubo diferencias ( $P < 0.05$ ). La dieta alta en proteína afectó ( $P < 0.05$ ) las concentraciones de insulina en plasma y esto fue mas marcado después de la alimentación.

Los animales en balance energético negativo se caracterizan por niveles sanguíneos elevados de hormona de crecimiento y ácidos grasos no esterificados, y niveles sanguíneos bajos del factor de crecimiento similar a la insulina tipo I (IGF-I), insulina, y glucosa (Whitaker *et al.*, 1993). La concentración de

insulina en sangre durante la mitad de la lactación (con un balance energético positivo) es de alrededor de 2.5 ng ml<sup>-1</sup>, mientras que al principio de la lactación es de unos 0.5 ng ml<sup>-1</sup>.

Debido a los resultados obtenidos en el presente estudio y que a varios trabajos lo respaldan se sugiere que la proteína puede afectar la respuesta reproductiva por parte del eje hipotalamo-hipofisis-ovario al través de la insulina. Koketsu *et al.* (1996) demostraron el efecto negativo de la restricción energética sobre la secreción de LH con ingesta proteica constante. Asimismo, Yang *et al.* (2000) observaron un efecto negativo de la restricción en lisina en la lactación sobre el desarrollo folicular y la maduración de los oocitos posterior al destete únicamente cuando esta restricción fue muy severa (dieta con 0,4 % lys), pero no encontraron un efecto positivo en estos parámetros por la extrasuplementación (1,0 vs 1,6 % lys, respectivamente).

Un mecanismo por el que el balance energético negativo puede empeorar la eficiencia reproductiva es la baja concentración de insulina en sangre. Downing *et al.* (1995) demostraron que la infusión intravenosa de glucosa aumenta la tasa de ovulación e incrementa la concentración de insulina. Williams *et al.* (1997) reportaron un incremento en la tasa de ovulación en ovejas que recibieron 0.5 ó 1.5 veces sus necesidades energéticas de mantenimiento como alimento o como infusión intravenosa de glucosa.

Por tanto, estos resultados implican a la glucosa en el control de la función ovárica y, dado que los niveles de glucosa están regulados por la insulina, también sugieren un papel de esta hormona en el mecanismo de efectos nutricionales que afectan al crecimiento folicular en ovejas (O'Callaghan y Boland, 1999). En efecto en cabras en condición corporal alta y (o) baja, sometidas a dos niveles de suplementación de proteína de sobrepeso (0 y 103.5 gr PNDR) las concentraciones de insulina en suero se correlacionaron positivamente con la actividad ovárica total, medida en número de folículos totales y cuerpos luteos totales.

Se sabe que el desarrollo folicular es controlado por varios factores de origen endocrino y paracrino (Webb *et al.*, 1994). Varios estudios han indicado que la insulina e IGF-I estimulan la proliferación de las células de la granulosa y la producción de progesterona (Gong *et al.*, 1993). Estudios in vitro han demostrado que la insulina estimula la captación y utilización de numerosos nutrientes y regula el crecimiento de las células de la granulosa en cerdos (Booth, 1990), además de potenciar los receptores de LH y producción de esteroides.

La insulina es una hormona, que además de mantener la glucemia, participa en: 1) la estimulación de la secreción de FSH (Adashi *et al.*, 1981). 2) la secreción pulsátil de LH (Bucholtz *et al.*, 2000) y 3) la secreción de progesterona por parte del cuerpo lúteo (Ladenheim *et al.*, 1984). Por lo tanto, niveles bajos de insulina en sangre pueden resultar en bajas concentraciones de progesterona.

Por otro lado los efectos de la insulina sobre la secreción de LH no son inmediatos. Rojkittikhun *et al.* (1993), no encontraron un efecto significativo en la secreción de LH en cerdas tras un ayuno de 24 h, a pesar de los bajos niveles de insulina. Sin embargo, si esta situación se prolonga sí se observa un efecto negativo. Flowers *et al.* (1989) observaron que el consumo de 11 Mcal EM d<sup>-1</sup> en cerdas a partir del día 8 del ciclo estral aumentaba la tasa de ovulación y la concentración de insulina y de pulsos de LH en los días previos al estro, mientras que la P4 no era modificada por el tratamiento. Booth *et al.* (1996) alimentaron ad libitum o a mantenimiento cerdas, las cerdas alimentadas ad libitum mostraban una mayor concentración y mayor número de pulsos de LH, lo que estos autores relacionaron con una mayor concentración de insulina y de IGF-I en los días..

Por tanto parece que el “flushing” incrementa la tasa de ovulación al estimular la secreción de gonadotropinas a través de la insulina y de las IGF. Almeida *et al.* (2001) observaron que la tasa de ovulación en cerdas restringidas la segunda semana del ciclo era incrementada por un tratamiento con insulina, y que dicho tratamiento provocaba un aumento en el pico de E2 y de LH. En cualquier caso la insulina *per se* disminuye la atresia folicular, permitiendo que un mayor número de folículos formen parte del pool preovulatorio por lo que es de esperar que aumente la tasa de ovulación (Almeida *et al.*, 2001).

O’Callaghan y Boland (1999) destacaron que, a diferencia de los monogástricos, los efectos nutricionales sobre la secreción de gonadotropinas en rumiantes son relativamente menores, a menos que la restricción alimenticia sea severa. El nivel de alimentación semanas previas al empadre afecta la composición del fluido folicular y a las concentraciones de hormonas sistémicas. O’Callaghan *et al.* (2000) observaron que ovejas recibiendo altos niveles de alimentación (2 veces las necesidades de mantenimiento, 2M) durante las 5 semanas previas a la cubrición presentaban un mayor número de folículos grandes (>3mm) y concentraciones de progesterona menores que las alimentadas con niveles de 0.5M o 1.0M. Las concentraciones de estradiol no se afectaron

por el nivel de alimentación mientras que concentraciones de los factores de crecimiento IGF-1 e IGF-2, resultaron significativamente modificadas.

Cambios en los niveles de insulina inducidos por modificaciones en el nivel de alimentación están estrechamente relacionados con las concentraciones de IGF-1 e IGF-2 y un incremento en los niveles de IGF-1 aumenta la capacidad esteroidogénica y de crecimiento de los folículos ováricos (Spicer y Echterkamp, 1995). Además, la insulina parece ser la principal responsable de la disminución de IGF-I durante el postparto (Grummer, 1995). Lo anterior sugiere que una suplementación con proteína en cabras con baja condición corporal en las últimas etapas de desarrollo folicular es recomendable. Una rápida mejora de la condición corporal a través de la suplementación con concentrados energéticos o proteicos en el periodo inmediatamente anterior a la cubrición está asociada a un incremento de la tasa de ovulación y del porcentaje de partos múltiples (O’Callaghan y Boland, 1999). A largo plazo, el nivel de alimentación determina el peso vivo y la condición corporal de las cabras, mientras que a corto plazo una mejora del nivel nutricional por un aumento del consumo o de la calidad de los suplementos alimenticios suministrados en el periodo de la cubrición (“flushing”) está relacionada con un aumento en la entrada de nutrientes a nivel celular que estimulan la secreción de hormonas gonadotrópicas o bien actúan directamente sobre el ovario aumentando la producción de progesterona (Cox *et al.*, 1987).

El efecto del flushing sobre la tasa de ovulación en cabras tiene dos componentes: uno estático relacionado con el efecto positivo sobre el peso vivo y, otro dinámico ligado a la rápida mejora de la condición corporal. El componente estático ha sido valorada en un aumento de la tasa de ovulación del 1.2-2% por kg de peso vivo (Smith y Stewart, 1990), mientras que diferencias de 0.25 puntos en la condición corporal pueden explicar diferencias de alrededor de 0.20 puntos en la tasa de ovulación en ganado ovino de Rasa Aragonesa (Forcada *et al.*, 1992). En razas prolíficas el efecto de la condición corporal sobre la tasa de ovulación es más importante que en razas poco mejoradas. Es probable que el aporte de energía a corto plazo esté directamente involucrado en el crecimiento folicular. Downing y Scaramuzi (1991) proponen que el efecto del flushing puede estar relacionado con una reducción en los niveles de atresia de la población de folículos que se encuentran en los estados finales de crecimiento y desarrollo. El crecimiento inicial del folículo es muy lento, mientras que el crecimiento preovulatorio (1 a 6-10 mm) que se inicia con la luteolisis, es muy rápido y requiere de 4 a 6 d (Morbeck *et al.*, 1992). El momento en que un folículo

potencialmente ovulatorio es más susceptible a la atresia es en los días 9-13 del ciclo estral que es cuando el flushing incrementaría la tasa de ovulación. Haresign (1981) demostró que el flushing no afectó al número de folículos pequeños en los ovarios de ovejas alimentadas a un nivel de 2 veces sus necesidades de mantenimiento y, por tanto, no influyó sobre el desarrollo folicular en las primeras fases. Sin embargo, la tasa de ovulación sí aumentaba por efecto del flushing al prevenir la atresia de los folículos más grandes (2-3 mm de diámetro).

Los resultados muestran una importante actividad ovárica de las cabras en la Comarca Lagunera en una época del año considerada reproductiva debido a una disminución en el fotoperíodo. Los resultados obtenidos sugieren que tanto la actividad ovárica como los niveles séricos de insulina en cabras de 19 meses esta más relacionada al efecto dinámico que al efecto estático, por lo tanto se sugiere que las concentraciones de insulina en suero pueden modular la respuesta reproductiva. En efecto los concentraciones séricas de insulina se correlacionaron positivamente con la actividad ovárica, por lo anterior una suplementación con proteína sobrepasante antes de la época de empadre puede promover elevados niveles séricos de insulina y redundar en un mejor comportamiento reproductivo en cabras, posiblemente en una ruta independiente de incrementos en gonadotropinas.

### CONCLUSIONES

El suplementar con 103.95 g de proteína no degradable en el rumen en cabras adultas de la Comarca Lagunera (25 LN) o el mantenerlas en una buena condición corporal antes de iniciar la época de empadre resultó en incrementos en la tasa ovulatoria correlacionándose positivamente con los niveles séricos de insulina.

Por lo anterior, tanto el efecto estático (peso vivo/ condición corporal), como el efecto dinámico de la nutrición (suplementación con proteína sobrepasante) pueden promover un estado metabólico caracterizado endócrinamente con elevados niveles séricos de insulina, y redundan en una mayor actividad ovárica en cabras, posiblemente en una ruta independiente de incrementos GnRH-Gonadotropinas.

### LITERATURA CITADA

Adashi, E.Y., Hsueh, A.J.W. and Yen, S.S.C. 1981. *Endocrinology*, 108: 1441-1449.

Aleksiev, A.I., Peeva, T., Vasilev, M. and Folikhronov, O. 1988. Effect of season of calving on reproductive performance and productivity of buffalo cows. *Zhivotnov'd Nauki* 25:3-10.

Almeida, F.R.C.L., Mao, J., Novack, S., Cosgrove, J.R. and Foxcroft, G.R. 2001. *J. Anim. Sci.*, 79: 200-212.

Arias, P., Jarry, H., Leonhardt, S., Moguilevsky, J., and Wuttke, W. 1993. Estradiol modulates the LH release response to N-methyl-D-aspartate in adult female rats: studies on hypothalamic luteinizing hormone-releasing hormone and neurotransmitter release. *Neuroendocrinology* 57:710-715.

Booth, P.J. 1990. *J. Reprod. Fert.*, (Suppl.). 40: 89-100.

Booth, P.J., Cosgrove, J.R. and Foxcroft, G.R. 1996. *J. Anim. Sci.*, 74: 840-848.

Campbell, B.K., Scaramuzzi, R.J. and Webb R. 1995. Control of antral follicle development and selection in sheep and cattle. *J. Reprod. Fert. Suppl.*, 49:335-350.

Cox, N.M., Stuart, M.J., Althen, T. G., Bennet, W.A. and Miller, H.W. 1987. *J. Anim. Sci.*, 64: 507-516.

De la Sota R.L., Lucy M.C., Staples, C.R. and Thatcher, W.W. 1993. Effects of recombinant bovine somatotrophin on ovarian function in lactating and nonlactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 76:1002-1013.

Downing, J.A., Joss, J. Connell, P. and Scaramuzzi, R.J. 1995. *J. Reprod. Fert.*, 103:137-145.

Downing, J.A. and Scaramuzzi, R.J. 1991. *J. Reprod. Fert.*, Suppl., 43: 209-227.

Flowers, B., Martin, M.J., Cantley, T.C. and Day, B.N. 1989. *J. Anim. Sci.*, 67: 771-778.

Forcada, F., Abecia, J.A. and Sierra, I. 1992. *Small Rum. Res.*, 8: 313-324.

Gill, J.L. and H.D. Hafs. 1971. Analysis of repeated measurements of animals. *J. Anim. Sci.* 33:331.

Gong, J.G., Bramley T.A. and Webb R. 1993. The effect of recombinant bovine somatotrophin on ovarian follicular growth and development in heifers. *J. Reprod. Fert.*, 97:247-254.

Gong, J. G. and Webb, R. 1996. Control of ovarian follicle development in domestic ruminants: its manipulation to increase ovulation rate and improve reproductive performance. *Animal Breeding*, 64:195-204.

Griffin, P.G. and O.J. Ginther. 1991. Research applications of ultrasonic imaging in reproductive biology. *J. Anim. Sci.*, 70:953-972.

Gutierrez, C.G. 1992. Comparación de la foliculogénesis y ciclos estrales de novillonas cebu y cebu-holstein

- durante los meses de marzo a junio en el trópico húmedo de México. Msc thesis, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Gutiérrez, A.C. 2001. Influencia de la nutrición e la reproducción. Memoria II Curso Internacional Fisiología de la reproducción en ruminantes. Montecillo, Texcoco, Mex.
- Grummer, R.R. 1995. *J. Anim. Sci.*, 73: 2820-2833.
- Haresign, W. 1981. *Anim. Prod.*, 32: 197-202.
- Hernández, R.G. 1997. Un plan hidráulico local para prevenir los efectos de la sequía en la Comarca Lagunera. Conferencias del 25 aniversario del CENID-RASPA, Gómez Palacio, Dgo. México.
- Hernández, E.R. 2001. Foliculogénesis. Maduración in vivo e in vitro de ovocitos. *Rev Iberoamericana de fertilidad*, 18:4.
- Koketsu, Y., Dial, G.D., Pettigrew J.E., Marsh, W.E. and King, V.L. 1996. *J. Anim. Sci.*, 74:1036-1046.
- Ladenheim, R.G., Tesone, M. and Charreu, E.H. 1984. *Endocrinology.*, 115: 752-756.
- Littel, Ramon C., Freund, Rudof, J., and Spector, Philip, C. SAS System for Linear Models, Third Edition, Cary, NC:SAS Institute INC., 1991. Linda Rudd Wooten.
- Lucy, M.C., Staples, C.R., Michel, F.M. and Thatcher, W.W. 1991. Energy balance and size and number of ovarian follicles detected by ultrasonography in early postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 74:473-482.
- Morbeck, D.E., Esbenshade, K.L., Flowes, W.L. and britt, J.H. 1992. *Biol. Reprod.*, 47: 485-491.
- Murphy, M.G. Enrigh, W.J., Crowe, M.A., McConell K., Spicer L J., Boland M.P. and Roche J.F. 1991. Effect of dietary intake on pattern of growth of dominant follicles during the oestrus cycle in beefheifers. *J. Reprod. Fert.*, 92:333-338.
- Muturi, K.N., Birnie, L.M., Struthers, J., Wheelhouse, N.M. and Lomax M.A. 2002. The effect of rumen protected protein on plasma insulin, IGF-1 and glucose in sheep. Department of Agriculture, MacRobert Building, University of Aberdeen, Aberdeen, AB24 5UA, U. K. Available in: <http://www.bsas.org.uk/meetings/annlproc/PDF99/163.pdf>
- NRC. 1981. Nutrient requeriments of goats. National academy Sciences. Washington, D.C.
- O'Callaghan, D. and Boland, M.P. 1999. *Anim. Sci.*, 68: 299-314.
- O'callaghan, D., Yaakub, H., Hyttel, P. Spicer, L.J. and Boland, M.P. 2000. *J. Reprod. Fert.*, 118: 303-313.
- Peters, A.L., Mayer, B.D. 1993. Protein and fat effects on glucose responses and insulin requirements in subjects with insulin-dependent diabetes mellitus. *Am. J. Clin. Nutr.*, 58:555-560.
- Picarel-Blanchot, F., Alvarez, C., Bailbe, D., Pascual-Leone, A.M. and Portha, B. 1995. Changes in insulin action and insulin secretion in the rat after dietary restriction early in life: influence of food restriction vs. low-protein food restriction. *Metabolism*. 44:1519-1526.
- Rhind, S.M. and Mcneilly, A.S. 1986. *Anim. Reprod. Sci.*, 10: 105-115.
- Rojkittikhun, T., Einarsoon, S., Zilinskas, H., Edqvist, L.E., Uvnäs-Moberg, K. and Lundeheim, N. 1993. *J.Vet. Med.*, (Series A) 40: 161-168.
- Smith, J.F. and Stewart, R.D. 1990. En: *Reproductive Physiology of Merino sheep. Concepts and Consequences*. C.M. Oldaham, G.B. Martin e I.W. Purvis (Eds). The University of Western Australia, Nedlands. pp: 85-101.
- Snedecor G.W. and W.G. Cochran. 1967. *Statical Methods*. (6<sup>th</sup> Ed.). The Iowa State Univ. Press, Ames.
- Spicer, L.J., E. Alpizar and S.E. Echterkamp. 1993. Effects of insulin, insulin-like growth factor I and gonadotrophins on bovine granulosa cell proliferation, progesterone production in vitro. *Journal Animal Science*, 71: 1232-12421.
- Spicer, L.J., Enrigh, W.J., Murphy, M.G. and Roche, J.F. 1991. Effect of dietary intake on concentration of IGF-I in plasma and follicular fluid, and ovarian function in heifers. *Dom. Anim. Endocrinol.*, 8:431-437.
- Webb, R., J.G. Gong and T.A. Bramley. 1994. Role of growth hormone and intrafollicular peptides in follicle development in cattle.
- Whitaker, D.A., Smith, E.J., Rosa, G.O.D. and Kelly J.M. 1993. Some effects of nutrition and management on the fertility of dairy cattle. *Vet. Rec.* 133: 61-64.
- Williams, S.A., Yaakub, H., O'callaghan, D., Boland, M.P. and Scaramuzzi, R.J. 1997. *J. Reprod. Fert.*, 19: 57.
- Yang, H., Foxcroft, G.R., Pettigrew, J.E., Johnston, L.J., Shurson, G.C., Costa, A.N. and Zak, L.J. 2000. *J. Anim. Sci.*, 78: 993-100.