

# EFEECTO DE LA CONDICIÓN CORPORAL Y LA SUPLEMENTACIÓN CON PROTEÍNA NO DEGRADABLE EN EL RUMEN SOBRE LAS CONCENTRACIONES SÉRICAS DE INSULINA Y EL DESARROLLO DE FOLÍCULOS ANTRALES EN CABRAS

## EFFECT OF BODY CONDITION AND RUMEN UNDEGRADABLE PROTEIN UPON SERUM INSULIN CONCENTRATIONS AND DEVELOPMENT OF ANTRAL FOLLICLES IN GOATS

C. A. Meza Herrera<sup>1</sup>, E. Alvarez Alvarez<sup>1</sup>, J. G. Chávez Perches<sup>2</sup>, H. Salinas González<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas. Universidad Autónoma Chapingo. A. P. 8, Bermejillo, Durango. México. 35230.  
e-mail: [cmeza2000@hotmail.com](mailto:cmeza2000@hotmail.com)

<sup>2</sup> Gabinete de Radiodiagnóstico y Ultrasonografía. Torreón, Coah. Méx.

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

**RESUMEN.** El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de la suplementación con proteína no degradable en el rumen y la condición corporal sobre el desarrollo de folículos antrales 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 del 2005 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 fotoperíodo 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 PGF2á 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 de folículos antrales (FA). Durante la fase folicular previa al segundo ciclo estral, se realizó un muestreo sanguíneo para cuantificar las concentraciones séricas de INS. Mientras que la CC afectó (P<0.05) FA, favoreciendo al grupo en CCA, (1.06±0.16 vs 0.87±0.16), el NSP afectó la expresión de FA\_ a favor de las cabras suplementadas, 0.81±0.16 vs 0.43±0.16, respectivamente. Mientras que las cabras en CCA mostraron los mayores niveles de INS, 1.93±0.18 vs 0.81±0.18 ng mL<sup>-1</sup>, las cabras suplementadas mostraron los mayores niveles de INS con respecto a las no suplementadas, 1.69±0.18 vs 1.04±0.18 ng mL<sup>-1</sup>, respectivamente. Lo anterior sugiere un efecto aditivo de la CCA y el nivel de suplementación CP, debido a que las cabras con CCA y el mayor nivel de suplementación proteica mostraron el mayor, número de FA y los mas altos niveles séricos de INS.

**Palabras clave:** Cabras, proteína no degradable en rumen, condición corporal, insulina, folículos antrales.

**SUMMARY.** The aim of this study was to evaluate the effect of by-pass protein supplementation and body condition upon antral follicle development 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 of 2005 at the Southern Goat Research Unit, located between the 25° NL and 103° WL, at 1,117 m.o.l.s. 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 post-ovulation, 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 PGF2á doses at 11 d interval, ovarian activity was evaluated by transrectal ultrasonography scanning during the late luteal phase of the second estrous cycle, considering the total number of antral follicles (FA). During the follicular phase prior to the second estrus, a blood sampling was performed in order to quantify serum INS concentrations. While CC affected (P<0.05) FA, favoring to the CCA group, (1.06±0.16 vs 0.87±0.16), the NSP affected the expression of FA, favoring to the supplemented goats 0.81±0.16 vs 0.43±0.16, respectively. While the CCA goats had the largest serum INS levels, 1.93±0.18 vs 0.81±0.18 ng mL<sup>-1</sup>, the supplemented goats depicted the largest serum INS levels with respect to the non supplemented goats. The last suggest a possible additive effect of both high condition body and protein supplementation level due to the goats with high condition body and with high level of supplementation protein depicted both the largest number of antral follicle and the highest level serum of insulin.

**Key words:** Goats, by-pass protein, body condition, insulin, antral follicles.

## INTRODUCCIÓN

La digestión y metabolismo de la proteína en los rumiantes se realiza en dos ecosistemas separados pero complementarios; primero por los microorganismos ruminales, los cuales la transforman parcialmente, dando lugar a la proteína microbiana y a la proteína sobrepasante y, después, por las enzimas del intestino delgado (ID) del animal hospedador (Broderick *et al.*, 1991). Los conocimientos sobre la digestión y el metabolismo del Nitrógeno (N) han progresado de manera simultánea a los métodos de medición de estos fenómenos, de manera que los sistemas son cada vez más precisos para mejorar el rendimiento del ganado (Vérite *et al.*, 1987). Cambios tanto en el peso vivo, la condición corporal y el nivel y tipo de suplementación, pueden promover cambios en el perfil de hormonas metabólicas y reproductivas impactando el funcionamiento de la actividad ovárica (Downing y Scaramuzi, 1991; Abdennebi *et al.*, 1999; Meza *et al.*, 2002a,b). Al respecto, se ha reportado que incrementos en el nivel nutricional por períodos cortos en etapas previas y durante el empadre, practica conocida como "flushing", incrementa la proporción de ovejas con partos múltiples (Coop, 1966).

La existente relación entre reproducción y estado nutricional en bovinos ha sido establecido (Moore y Campos da Rocha, 1983; Galina y Arthur, 1989; Arregu'yin *et al.*, 1997), ya que reportes indican que un estado de subnutrición es el principal obstáculo en sistemas de producción bovina en regiones tropicales. La subnutrición o consumo inadecuado de nutrientes para las demandas metabólicas, es el principal factor contribuyente a prolongados anestros postparto, particularmente en las vacas que todos requerimientos alimenticios dependen de forrajes naturales (pastoreo) (Jolly *et al.*, 1995). Una subnutrición también puede interactuar con un ambiente genético o factores de manejo para influir en la duración del anestro postparto y a través de la precisa naturaleza de estos factores y este complejo de interacciones a menudo, muchos de estos aparecen para actuar comúnmente vía mecanismos hormonales (Jolly *et al.*, 1995).

Por otro lado la insulina actúa sobre el ovario amplificando la acción de la LH en las células tecaes. El mecanismo de acción lo ejerce fundamentalmente actuando sobre sus propios receptores, aunque también puede actuar sobre el receptor de IGF1. INS potencia la respuesta esteroidogénica a gonadotropinas a nivel ovario, tanto *in vitro* como *in vivo*. En las células de la granulosa estos efectos pueden ser mediados por un incremento en el número de receptores a LH, en ese momento INS en conjunto con FSH incrementa la capacidad del ovario para que pueda captar LH. Además,

INS puede actuar sobre la hipófisis para incrementar la sensibilidad a GnRH (Poretsky y Piper., 1994).

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). El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de suplementación de proteína sobrepasante en rumen sobre las concentraciones de insulina en suero y su efecto sobre el desarrollo de folículos antrales.

## MATERIALES Y METODOS

**Localización del área experimental.** 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 extremoso (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

Cuadro 1. Medias de mínimos cuadrados para peso inicial y final (kg), de los grupos con alta (ACC) y baja (BCC) condición corporal durante la formación de grupos experimentales.

Peso vivo	Inicio (Julio)	Final (Agosto)
Baja condición	28.81±0.74	28.78±1.02
Alta condición	35.12±0.74	38.46±1.02
Probabilidad	0.0001	0.0001

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). Los pesos de los grupos de baja y alta condición corporal al inicio y al final del periodo de adaptación se presentan en el cuadro 1, mismos que fueron diferentes ( $P < 0.0001$ ) entre ambos grupos de baja y alta condición corporal. 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,  $n=16$ ,  $28.81 \pm 0.72$  kg PV) o alta (CCA,  $n=16$ ,  $35.12 \pm 0.72$ ) recibieron uno de dos niveles de suplementación de proteína (NSP): sin proteína (SP  $0$  g cabra  $d^{-1}$ ) o con proteína (CP,  $103.95$  g cabra  $d^{-1}$ ) durante 40-d pre y 14-d postovulación, bajo condiciones de fotoperíodo 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.

**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). Dicho fármaco es una prostaglandina sintética análoga, estructuralmente relacionada a la prostaglandina F<sub>2</sub>, aunque su actividad luteolítica está aumentada. La segunda aplicación de cloprostenol se realizó 11 días después de la primera.

**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  $10 \text{ ml}^{-1}$  (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).

Recibido: Jun. 5, 2006  
Aceptado: Ago. 4, 2008

**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 estéril 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 rastreador 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, folículos antrales y número de cuerpos lúteos totales presentes en cada ovario, fueron registrados así como fotografiados.

**Análisis estadístico.** Los pesos corporales, condición corporal, número de folículos antrales (FA), fueron evaluados mediante un ANOVA dentro de un diseño completamente al azar con un arreglo factorial de tratamientos  $2 \times 2$  (Snedecor y Cochran, 1967). Cuando se observaron valores significativos de F, la separación de medias consideró el procedimiento PDIFF para probar sus diferencias. Los datos de insulina fueron analizados como un diseño completamente al azar con arreglo de parcelas divididas para mediciones repetidas en el tiempo (Gill y Hafs, 1971). Todos los análisis consideraron los procedimientos GLM del programa SAS (Littell *et al.*, 1991).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Cambios en peso corporal.** En el Cuadro 2 se muestran los pesos al inicio y al final del periodo experimental. Las cabras del grupo de baja condición corporal pesaron menos ( $P < 0.0001$ ) que las cabras en condición corporal alta. El peso vivo al momento del análisis de ultrasonido difirió ( $P < 0.0001$ ) entre condiciones corporales. El peso de los animales que fueron suplementados con PNDR al inicio y al término del experimento fueron similares a aquellos no suplementados.

**Folículos antrales.** El incremento de un folículo antral se reflejó por la condición corporal alta con respecto a la baja, el nivel de proteína en la dieta permitió un incremento solo de 0.38 folículos antrales cuando se suministró proteína de sobrepeso.

Cuadro 2. Medias de mínimos cuadrados para peso vivo (PV, kg), al inicio y al final del periodo experimental 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		
	Baja	Alta	$\alpha$	ES	Sin	Con	$\alpha$	ES
PV1	28.81	35.12	0.0001	0.74	31.93	32.0	0.95	0.74
PVUS	28.78	38.47	0.0001	1.02	32.56	34.68	0.15	1.02

PV1= Peso al inicio del periodo experimental (agosto)  
PVUS= Peso al final del periodo experimental (octubre )

Cuadro 3. Medias de mínimos cuadrados para peso vivo (PV, kg), folículos antrales (FA, 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)

Variables	Condición corporal					Nivel de proteína <sup>1</sup>		
	Baja	Alta	$\alpha$	ES	Sin	Con	$\alpha$	ES
PV	28.81	35.12	<.0001	0.74	31.93	32.0	0.953	0.74
FA	0.87	1.06	0.0008	0.16	0.43	0.81	0.12	0.16
INS	0.81	1.93	0.0008	0.18	1.04	1.69	0.023	0.18

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

2 ES, error estándar de medias de mínimos cuadrados más conservador

En el Cuadro 3 se muestra las medias de mínimos cuadrados para peso vivo (PV, kg), folículos antrales (FA, 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). 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 PNDR 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 FA, favoreciendo al grupo en CCA,  $1.06 \pm 0.16$  vs  $0.87 \pm 0.16$ . Sin embargo, el NSP afectó ( $P < 0.05$ ) la expresión de FA, a favor de las cabras suplementadas por el orden de  $0.81 \pm 0.16$  vs  $0.43 \pm 0.16$ , respectivamente. El nivel sérico de insulina favoreció a

las cabras en CCA,  $1.93 \pm 0.18$  vs  $0.81 \pm 0.18$  ng ml<sup>-1</sup>, así como al grupo CP,  $1.69 \pm 0.18$  vs  $1.04 \pm 0.18$  ng ml<sup>-1</sup>.

**Discusión.** La hipótesis planteada al inicio del experimento consideró que existe una respuesta diferenciada de la suplementación de PNDR por parte del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal en cabras con condición corporal divergentes y que generan una mayor sensibilidad ovárica, redundando en un mayor desarrollo de folículos antrales y que esto se relaciona positivamente con mayores niveles séricos de insulina. Los resultados obtenidos en el presente trabajo muestran que el nivel de suplementación de PNDR afectó FA, sin embargo la CC también 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, una reducción en el número de folículos pequeños pudo observarse en condición de desnutrición extrema (Gutiérrez, 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 presente estudio se encontró un efecto por parte de la suplementación con proteína de sobrepeso sobre el número de folículos antrales. 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).

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 (Gutiérrez, 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 FA. 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. 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 número 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 menor en animales con dietas bajas en energía comparado con animales con dietas altas en energía (Murphy *et al.*, 1991). Lo anterior sugiere que cuando la CC afectó los FA, 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, siempre y cuando se tengan los animales en un balance energético positivo, o sea en buena condición corporal se obtendrán mayores resultados en cuanto a cantidad de FA y más folículos ovulados. Las concentraciones de insulina en sangre fueron afectadas 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).

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 a que varios trabajos lo respaldan se sugiere que la proteína puede afectar la respuesta reproductiva por parte del eje hipotálamo-hipófisis-ovario a 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). 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 g PNDR), las concentraciones de insulina en suero se correlacionaron positivamente con la actividad ovárica total, medida en número de folículos antrales. Se sabe que el desarrollo folicular es controlado por varios factores de origen endocrino y parácrino (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, además de potenciar los receptores de LH y producción de esteroides. (Booth, 1990).

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.

Flores *et al.* (1989) observaron que el consumo de 11 Mcal EM d-1 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. 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).

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 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).

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 Raza 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.

## CONCLUSIONES

De acuerdo a la hipótesis planteada y conforme a los resultados, se concluye que al suplementar con 103.95 g cabra/día de proteína sobrepasante en cabras de la Comarca Lagunera, así como mantener a los animales en buena condición corporal, se obtiene una mayor concentración sérica de insulina en plasma, así como un mayor número de folículos antrales.

En efecto los resultados obtenidos en el presente trabajo 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.

## LITERATURA CITADA

- Abdennebi, L.; Monget, P.; Pisselet, C.; Remy, J.; Salesse, R. y Monniaux, D. 1999. Nutrient effects on ovulation rate, ovarian function and the secretion of gonadotrophic and metabolic hormones in sheep. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 43:209-227.
- Adashi, E.Y.; Resnick, C.E.; Payne, D.W.; Rosenfeld, R.G.; Matsumoto, T. Hunter, M.K.; Gargosky, S.E.; Zhou, J. y Bondy, C.A. 1997. The mouse intraovarian insulin-like growth factor I system: departures from the rat paradigm *Endocrinology* 138:3881-3890
- Almeida, F.R.C.L.; Mao, J.; Novack, S.; Cosgrove, J.R. y Foxcroft, G.R. 2001. Effects of patterns of feed restriction and insulin treatment during the luteal phase on reproductive, metabolic and endocrine parameters in cyclic gilts. *J. Anim. Sci.* 79: 200-212.
- Arregu'yín, J.A.A.; Santos, R.E.; Villa-Godoy, A. y Román-Ponce, H. 1997. Dinámica folicular ovárica en vacas Cebú con diferente condición corporal y frecuencia de amamantamiento durante el período anovulatorio posparto. División de Educación Continua, UNAM, F.M.V.Z. (Eds.), VII Curso Internacional de Reproducción Bovina. México., pp. 210-240.
- Booth, P.J.; Cosgrove, J.R. y Foxcroft, G.R. 1996. Endocrine and metabolic responses to realimentation in feed-restricted prepubertal gilts: associations among gonadotropins, metabolic hormones, glucose, and uteroovarian development. *J. Anim. Sci.*, 74: 840-848.
- Broderick, G.A.; Wallace, R.J. y Orskov, E.R. 1991. Control of rate and extent of protein degradation. pp 541-581 *In Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants.* (Eds). Academic Press. 779 pp. Proc. of the 7<sup>th</sup> Int. Symp. on ruminant physiology. Tsuda, T., Sasaki, Y. And Kawashima, R.
- Bucholtz, DC.; Chiesa, A.; Pappano, WN.; Nagatani, S.; Tsukamura, H.; Maeda, K-I. y Foster, DL. Regulation of pulsatile luteinizing hormone secretion by insulin in the diabetic male lamb. *Biol Reprod* 2000; 62: 1248-1255.
- Campbell, B.K.; Scaramuzzi, R.J. y Webb, R. 1995. Control of antral follicle development and selection in sheep and cattle. *J. Reprod. Fert. Suppl.*, 49:335-350.
- Coop, I.E. 1966. Effect of flushing on reproductive performance of ewes. *J. Agric. Sci.* 67:305-323.
- De la Sota, R.L.; Lucy, M.C.; Staples, C.R. y 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. and Scaramuzzi, R. J. 1991. Nutrient effects on ovulation rate, ovarian function and the secretion of gonadotropic and metabolic hormones in sheep. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 43:209-227.
- Downing, J.A.; Joss, J.P.; Connel, J. y Scaramuzzi, R.J. 1995. Ovulation rate and the concentration of gonadotropic and metabolic hormones in ewe fed lupin grain. *J. Reprod. Fert.* 103:137-145.
- Flores, B., M. J. Martin, T. C. Cantley, y B. N. Day. 1989. Endocrine changes associated with a dietary-induced increase in ovulation rate (flushing) in gilts. *J. Anim. Sci.* 67:771-778.
- Forcada, F.; Abecia, J.A. y Sierra, I. (1992). Seasonal changes in oestrous activity and ovulation rate in Rasa Aragonesa ewes maintained at two different body condition levels. *Small Ruminantes.*, 8: 313-324.
- Galina, C. S. y Arthur, G. H. (1989). Review of cattle reproduction in the tropics. Part 3. Puerperium. *Animal Breeding Abstracts.* 57: 899-910.
- Gill, J.L. y Hafs, H.D. 1971. Analysis of repeated measurements of animals. *J. Anim. Sci.* 33:331.
- Gong J.G.; Webb, R. y Bramley, T.A. 1993. Role of growth hormone and intrafollicular peptides in follicle development in cattle.
- Gong, J. G. y Webb, R. 1995. 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. y Ginther. 1992. Research applications of ultrasonic imaging in reproductive biology. *J. Anim. Sci.* 70:953-972.
- Grummer, R.R. 1995. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. Department of Dairy Science, University of Wisconsin, Madison 53706, USA. *J. Anim. Sci.*, 73: 2820-2833
- 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. Tesis de Maestría. 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 rumiantes. Montecillo, Texcoco, Mex.
- 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.
- Hoefler, W.C. y Halford, D.M. 1987. influence of suckling status and type of birth on serum hormones profiles and return to estrus in early-postpartum spring lambing ewes. Teriogenology, 27:887.
- Jolly, P.D.; McDougall, S.; Fitzpatrick, L.A.; Macmillan, K.L. y Entwistle, K.W. 1995. Physiological effects of undernutrition on postpartum anoestrus in cows. Journal of Reproduction and Fertility (Supplement) 49:477-492.
- Koketsu, Y.; Dial, G.D.; Pettigrew J.E.; Marsh, W.E. y King, V.L. 1996. Influence of imposed feed intake patterns during lactation on reproductive performance and on circulating levels of glucose, insulin, and luteinizing hormone in primiparous sows. J. Anim. Sci., 74:1036-1046. University of Minnesota, St. Paul 55108, USA
- Ladenheim, R.G.; Tesone, M. y Charreu, E.H. 1984. Insulin action and characterization of insulin receptors in rat luteal cells. Endocrinology., 115: 752-756.
- Little, C.R. *et al.*, 1991. SAS System for Linear Models, Third Edition, Cary, NC: SAS Institute Inc., 229 pp.
- Lucy, M.C.; Staples, C.R.; Michel, F.M. y 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.
- Meza, H. CA.; Lopez, AD.; Chavez, P. JG.; Salinas, H.; Valencia, M. y Mellado, M. 2002a. Influence of nutrition on ovarian activity in goats. I. Effect of fat by-pass supplementation. J. Anim. Sci. 80:Suppl. 1, 193.
- Meza, H. CA.; Lopez, AD.; Chavez, P. JG.; Salinas, H.; Valencia, M. y Mellado, M. 2002b. Influence of nutrition on ovarian activity in goats. II. Effect of fat by-pass supplementation. J. Anim. Sci. 80:Suppl. 1, 193.
- Moore, C.P. y Campos da Rocha, C., 1983. Reproductive performance of Gyr cows: the effect of weaning age of calves and postpartum energy intake. J. Anim. Sci. 57, 807-814.
- Morbeck, D.E.; Esbenshade, K.L.; Flowes, W.L. y Britt, J.H. 1992. Kinetics of follicle growth in the prepubertal gilt. Biol Reprod 47:485-491. Biol. Reprod., 47: 485-491.
- Murphy, M.G.; Enrigh, W.J.; Crowe, M.A.; McConell K.; Spicer L.J.; Boland M.P. 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.
- NRC. 1981. Nutrient requeriments of goats. National academy Sciences. Washington, D.C.
- O'Callaghan, D. y Boland, M.P. 1999. Nutritional Effects on Ovulation, Embryo Development and the Establishment of Pregnancy in Ruminants. Animal Science, 68, 1999, pp. 299-314.
- Petters, A.L. and 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.
- Poretzky, L. y Piper, B. 1994. Insulin resistance, hypersecretion of LH, and a dual-defect hypothesis for the pathogenesis of polycystic ovary syndrome. Obstet. Gynecol. 84: 613-621.
- Rhind, S.M. y McNeilly, A.S. 1986. Follicle populations, ovulation rates and plasma profiles of LH, FSH and prolactin in Scottish blackface ewes in high and low levels of body condition. Animal Reproduction Science 10, 105-115.
- Rojkittikhun, T., Einarsoon, S., Zilinskas, H., Edqvist, L.E., Uvnäs-Moberg, K. y Lundeheim, N. 1993. J.Vet. Med. Effects of nutrition on pregnant and lactating sows. (Series A) 40: 161-168.
- Smith, J.F. y Stewart, R.D. 1990. En: Reproductive Physiology of Merino sheep. Concepts and Consequences. C.M. Oldham, G.B Martin e I.W. Purvis (Eds). The University of Western Australian, Nedlands. pp: 85-101.
- Snedecor, G. W y Cochran. 1967. Statistical methods. (6<sup>th</sup> Ed.). The Iowa state Univ. Press, ames., USA.
- Spicer, L.J, y Echterkamp, S.E. 1995. The ovarian insulin and insulin like growth factor system with an emphasis on domestic animal. Anim. Sci. Oklahoma State University Stillwater, Jul. 12(3):223-245. USA.
- Vérite, R. ; Michalet-Doreau, B. ; Chapoutot, P. ; Peyraud, J.L. y Poncet, C. 1987. Révision du système des protéines digestibles dans l'intestin (PDI). Bull. Tech. CRZV. Theix. INRA. 70, 19-34.
- Whitaker, D.A.; Smith, E.J.; Rosa, GOD. y 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. y Scaramuzzi, R.J. 1997. Effect of dietary intake and glucose infusion on ovulation rate and Embryo quality in superovulated ewes. Abstract. 151. J. Reprod. Fert., 19:57.
- Yang, H.; Foxcroft, G.R.; Pettigrew, J.E.; Johnston, L.J.; Shurson, G.C.; Costa, A.N. y Zak, L.J. 2000. Impact of dietary lysine intake during lactation on follicular development and oocyte maturation after weaning in primiparous sows. J. Anim. Sci. 78:993-1000