

SUPLEMENTACIÓN EXÓGENA DE BETACAROTENO, INICIO DE LA PUBERTAD Y NIVELES SÉRICOS DE INSULINA EN CABRAS PERIPUBERALES

EXOGENOUS BETACAROTENE SUPPLEMENTATION, ONSET OF PUBERTY AND SERUM INSULIN LEVELS IN PERIPUBERAL GOATS

L.C. Hernández-Valenzuela¹, C.A. Meza-Herrera^{1*}, L. González-Sánchez¹, R. Vicente-Pérez¹, A. González-Bulnes², F.G. Veliz-Deras³, M. Mellado-Bosque³, M. Wurzinger⁴

¹ Universidad Autónoma Chapingo, Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas. México.

² Departamento de Reproducción, INIA, España.

³ Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. México.

⁴ BOKU - University of Natural Resources and Applied Life Sciences, Austria.

* cmeza2000@hotmail.com

RESUMEN. La suplementación con betacaroteno (BC), al actuar como antioxidante y regular eventos nucleares, incrementa la eficiencia reproductiva en rumiantes. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la suplementación de BC sobre el inicio de la pubertad y los niveles séricos de insulina en cabras. El estudio se realizó en la URUZA-UACH (26° LN, 103° LW, 1,117 m), de junio a septiembre. Cabras prepúberes (n=17, 3 meses, 7/8 Saanen-Alpino) recibieron una dieta para cubrir el 120% de sus requerimientos nutricionales. En junio las cabras fueron asignadas aleatoriamente a uno de dos grupos 1). Betacaroteno (BC, n=9; PV=17.29±0.97 kg, CC=3.34±0.12), y 2). Control, (CONT, n=8; PV=16.13±1.04 kg, CC=3.17±0.12). El grupo-BC fue a suplementado con 50 mg día⁻¹ de betacaroteno (SYNTEX-México) durante todo el período experimental. Se realizó un muestreo intermitente de sangre una vez por semana en ambos grupos para evaluar, mediante RIA, los niveles séricos de progesterona (P4) e insulina (INS). Cabritas con dos muestras consecutivas con niveles de P4 superior a 1 ng mL⁻¹ fueron consideradas en pubertad. Los valores iniciales para PV y CC fueron 16.65±1.04 kg, y 3.31±0.12 unidades, sin observar diferencias (P>0.05) entre los grupos tanto al inicio como durante todo el período experimental. El porcentaje de cabras mostrando actividad ovárica (pubertad) no difirió (P>0.05) entre los grupos BC y CONT, (44% vs. 25%), respectivamente. Sin embargo, se observó un efecto (P<0.05) del tiempo de muestreo sobre el patrón de secreción de INS, independientemente del grupo experimental e inicio de la pubertad. Los resultados sugieren que la administración exógena de betacaroteno no generó un inicio más precoz en la activación del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas durante el establecimiento de la pubertad en caprinos.

Palabras clave. Cabras, betacaroteno, pubertad, progesterona, insulina.

SUMMARY. Betacarotene (BC) supplementation, by acting as antioxidant and regulator of nuclear events, increases reproductive efficiency in ruminants. The aim of this study was to evaluate the effect of BC supplementation upon the onset of puberty and serum levels of insulin in goats. The study was carried out at URUZA-UACH (26° NL, 103° WL, 1,117 m), from June to September. Prepuberal goats (n=17, 3 mo., 7/8 Saanen-Alpine) received a diet to cover 120% of their nutritional requirements. In June, goats were randomly assigned to one of two groups: 1). Betacarotene (BC, n=9; LW=17.29±0.97 kg, Body condition score (BCS)=3.34±0.12), and 2). Control, (CONT, n=8; LW=16.13±1.04 kg, BCS=3.17±0.12). The BC-group was daily supplemented with 50 mg of BC (SYNTEX-México) during the whole experimental period. From mid-June and up to late September, an intermittent blood sampling was carried out weekly in both groups to evaluate, through RIA, serum progesterone (P4) and insulin (INS). Goats with two consecutive serum P4 samples e" 1 ng mL⁻¹ were considered as reproductive active (onset of puberty). Initial values for LW and BCS were 16.65±1.04 kg, and 3.31±0.12 units, without differences (P>0.05) between groups both at the beginning and during the whole experimental period. Percentage of goats depicting puberty did not differ (P>0.05) between experimental groups (BC, 44% vs. CONT, 25%). However, a sampling time effect was observed (P<0.05) upon the secretion pattern of INS, irrespectively of experimental group and the onset of puberty. Results suggest that exogenous BC administration did not promote a precocious activation of the hypothalamic-hypophyseal-gonadal axis during the establishment of the puberal process in goats.

Key words: Goats, betacarotene, puberty, progesterone, insulin.

INTRODUCCIÓN

La cabra es una especie estacional; los días largos de primavera y verano, seguidos de los días cortos de otoño e invierno proveen la señal estimuladora para iniciar la activación del eje hipotalámico-hipofisiario-gonadal que da como resultado el inicio de la función reproductiva (Foster, 1994). El inicio de la pubertad es el resultado de una serie de complejos eventos neuroendocrinos que ocurren en el eje hipotalámico-hipofisiario-gonadal caracterizado por el inicio en una alta frecuencia en el ritmo de liberación de GnRH, LH y FSH, generando el primer pico preovulatorio de LH y posterior primo-ovulación (Foster, 1994; Meza-Herrera et al., 2010). En el mismo sentido, se ha reportado una relación positiva entre los niveles de insulina y la función ovárica; cuando se administra insulina durante el desarrollo preovulatorio se incrementa la tasa de ovulación y decrece la atresia folicular (Matamoros et al., 1990). En efecto, cambios en los niveles plasmáticos de hormonas metabólicas son señales importantes que informan el estado nutricional en rumiantes y que afectan su comportamiento reproductivo (Meza-Herrera et al., 2004; Meza-Herrera et al., 2007; Gamez-Vazquez et al., 2008; Meza-Herrera et al., 2008; Guerra-García et al., 2009). Estudios previos han demostrado una estrecha relación positiva, entre el peso corporal, el estado nutricional y el inicio de la pubertad en bovinos de carne (Schillo et al., 1992), ovejas (Foster et al., 1989) y roedores (Bronson 1986). Suttie *et al.*, (1991) proponen que el peso corporal y las reservas de grasa son una consecuencia correlacionada a los cambios metabólicos que ocurren antes y cercanos al inicio de la pubertad y sugieren que algunos metabolitos, hormonas, ó sus combinaciones, desencadenan la activación del eje reproductivo e inician la pubertad.

Los carotenoides son importantes al ser precursores de vitamina A y retinoides (Chew et al., 1993; Hattori et al., 2000; Schweigert et al., 2003). El betacaroteno (BC), es un importante carotenoide presente en plantas verdes, y ha demostrado promover eventos clave en un amplio rango de procesos biológicos (Schweigert, 1998). Además de ser precursor de retinol, BC ejerce funciones similares a la vitamina E, actuando como un potente antioxidante, factor antiapoptótico y modulador de eventos nucleares en diferentes tejidos (Chew et al., 1993; Schweigert, 1998). Aún cuando apreciables cantidades de BC son destruidas en el rumen, el BC es absorbido por las células de la mucosa intestinal en donde es transformado a retinal (RAL) y reducido subsecuentemente a retinol (ROL). Sin embargo, en bovinos, grandes cantidades de BC no es expuesto a cortes enzimáticos en las células intestinales y es incorporado en quilomicrones como BC, transportado y

almacenado en hígado. Posteriormente, BC es distribuido como fracción lipoprotéica a diferentes tejidos del cuerpo, entre estos el ovario, reportándose la presencia de BC en fluido folicular y en células de la granulosa en donde es convertido de BC a ROL, regulando la activación de genes específicos y modulando eventos nucleares en grupos celulares de la teca, granulosa y lúteas (Ikeda et al., 2005).

No existen evidencias que demuestren un efecto positivo de la suplementación de BC sobre el inicio de la pubertad. Sin embargo, estudios encaminados a explicar el efecto de esta molécula sobre el eje reproductivo, sugieren un rol potencial del BC en la activación de neuronas GnRH, pudiendo desencadenar, por lo tanto, el inicio de la pubertad. Recientemente, Kawashima et al., (2008) reportaron una relación positiva entre las concentraciones séricas de BC y la actividad ovárica durante la primera oleada folicular postparto en bovinos. Adicionalmente, Arellano-Rodríguez et al. (2009) reportaron un efecto positivo de la suplementación exógena de BC sobre la actividad ovárica de cabras, aumentando tanto la tasa ovulatoria como la síntesis de progesterona. De ésta forma, BC podría actuar como una señal metabólica coadyuvante en la activación de las neuronas de GnRH, ya sea asociado a un incremento insulina sérica o bien actuando como factor anti-apoptótico, anti-oxidante o regulador de eventos nucleares, promoviendo la activación del eje hipotalámico-hipofisiario-gonadal. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la suplementación de BC sobre el inicio de la pubertad evaluando los niveles séricos de progesterona y su relación con insulina, ambos como marcadores endocrinos del inicio de la actividad ovárica en cabritas prepúberes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del área experimental, condiciones ambientales, animales y alimentación. El estudio se realizó en la Unidad de Investigación Caprina Sur, de la Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas, Universidad Autónoma Chapingo (URUZA-UACH, 26° LN, 103° LO, a 1,117 msnm). El clima es de tipo cálido seco con oscilaciones térmicas extremas. Los promedios anuales de precipitación y temperatura son 217.1 mm y 22.3°C, respectivamente. Cabras prepúberes (n=17, PV=16.65±1.04 kg, CC=3.31 ±0.11, 3 meses de edad) con un encaste de 7/8 Sannen-Alpina, recibieron una dieta para cubrir 120% de sus requerimientos nutricionales (NRC, 1988). Tanto el PV como la condición corporal (CC) fueron registradas semanalmente previo a su alimentación. La CC se evaluó mediante palpación dorsal y costal utilizando una

escala de 1 (muy flaca) a 5 (muy gorda). Las cabras fueron alimentadas dos veces al día: por la mañana (0700) heno de alfalfa (14% PC, 1.14 ENm Mcal kg⁻¹) y ensilado de maíz (8.1% PC, 1.62 ENm Mcal kg⁻¹), y por la tarde (1800) maíz roado (11.2% PC, 2.38 ENm Mcal kg⁻¹) bajo condiciones naturales de luz durante junio a septiembre a 26° LN.

Diseño de tratamientos. En junio, las cabras fueron aleatoriamente distribuidas en dos grupos experimentales: 1). Betacaroteno (BC, n=9; PV=17.29±0.97 kg, CC=3.34±0.12), y 2). Control, (CONT, n=8; PV=16.13±1.04 kg, CC=3.17±0.12). Las cabritas del grupo BC, recibieron una suplementación de 50 mg cabra día⁻¹ de BC (Syntex-México, SA de CV) durante todo el período experimental. Ambos grupos (BC y CONT) recibieron una dieta basal consistente de alfalfa (14% PC; 1.14 Mcal kg ENm), y ensilado de maíz (8.1% PC; 1.62 Mcal kg ENm) y tuvieron libre acceso a agua, sales minerales y sombra.

Muestreo intermitente de sangre. A mediados de junio y hasta finales de octubre, se realizó un muestreo semanal intermitente de sangre en las cabras en estudio. Las muestras sanguíneas fueron colectadas mediante venopunción de la yugular utilizando agujas estériles de 0.8x38 mm (Becton Dickinson & Co., Franklin Lakes, USA) y tubos colectores Vacutainer de 10 mL (Corvac, Sherwood Medical, St Louis, MO, USA). Una vez centrifugadas las muestras (1,500 x g, 15 min), cada muestra de suero con su réplica fueron almacenadas en tubos de polipropileno a - 4° C. En total se colectaron 16 muestras por cabra; 144 (BC) y 128 (CONT) muestras por tratamiento, para un total de 272 muestras originales de suero.

Análisis endocrinos, criterios para evaluar pubertad y análisis estadísticos. Las muestras de suero fueron evaluadas por duplicado por su contenido de P4 e INS mediante RIA (Diagnostic Products, Los Angeles, CA, USA). Para el análisis de P4, la prueba fue modificada y validada para el uso en suero de rumiantes (Schneider y Hallford, 1996), con un límite de detección de 0.2 pg mL⁻¹ y valores de CV intra- e inter- ensayo de 7.4% y 12.8%, respectivamente. Los análisis de INS fueron realizados de acuerdo a los procedimientos señalados por Berrie et al., (1995), obteniendo un CV intra-ensayo de 9.8 % y un límite de detección de 0.2 ng mL⁻¹. Cabritas con dos muestras consecutivas de suero con niveles séricos de P4 e" 1 ng mL⁻¹ fueron clasificadas reproductivamente activas considerando en dicho momento el inicio de la pubertad (Cushwa et al., 1992). Los análisis endocrinos fueron realizados en el Departamento de Ciencia Animal de la Universidad Estatal de Nuevo México, E.U.A. Los PV y la CC fueron

evaluados mediante un ANOVA-DCA. Las concentraciones séricas de P4 e INS fueron evaluadas mediante un ANOVA-DCA con un arreglo de parcelas divididas para muestras repetidas en el tiempo. El efecto del tiempo de muestreo fue incluido en la parcela mayor, utilizando en término tiempo x cabra (tiempo) para calcular el error. Tanto el tratamiento como la interacción tratamiento x tiempo fueron incluidos en la parcela menor. El porcentaje de cabritas mostrando o no actividad ovárica consideró un análisis de Xi² (Morris, 1999). Todos los análisis consideraron los procedimientos del paquete estadístico SAS (SAS, 1991).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 1 se concentran las medias de mínimos cuadrados para PV y CC en cabritas pre-púberes de los grupos BC y CONT bajo un fotoperiodo natural decreciente. El PV promedio al inicio del período experimental fue 16.65±1.04 kg, y la CC promedió 3.31±0.12 unidades, nos existieron diferencias (P>0.05) entre los grupos experimentales para las citadas variables a lo largo del período experimental. En el mismo sentido, tanto el porcentaje de cabritas mostrando el inicio de la actividad reproductiva (pubertad) determinada por los niveles séricos de P4, así como los promedios de los niveles séricos a lo largo del período experimental, no difirió (P>0.05) entre tratamientos (Cuadro 1). Sin embargo, se observó un efecto del tiempo de muestreo sobre los niveles séricos de insulina a través del tiempo, independientemente del grupo experimental o del inicio de la pubertad (Cuadro 2, Figura 1).

En terminos neuroendocrinos, la pubertad se define como la reactivación en la liberación de GnRH (Ebling, 2005) reflejando la integración de múltiples señales internas y externas que actúan sobre procesos genéticos afectando el comportamiento animal. Algunos de los más importantes desordenes del inicio de la pubertad se reflejan a diferentes niveles del sistema reproductivo hipotalamo, pituitaria y gonadal. Existen una gran variedad de factores que afectan directamente el comportamiento sexual puberal, entre ellos, el estado endocrino, estación del año, la nutrición, estrés, edad, peso y condición corporal entre los más importantes.

Se ha reportado que el inicio de la pubertad es influido por el peso vivo, la condición corporal y edad; Sakurai et al. (2004) concluyeron que las cabras inician la pubertad a las 27 semanas de edad con un peso corporal de 12.2 kg. Por su parte Delgadillo (2007), reportó que cabras en el subtrópico mexicano, nacidas en enero y mayo, entran en pubertad en septiembre y diciembre

respectivamente, del mismo año de nacimiento, con un PV promedio a la pubertad de 27 kg, observando un pronunciado efecto de estacionalidad y del mes de nacimiento sobre el inicio de la pubertad. En nuestro estudio se utilizaron cabras nacidas en el mes de marzo, logrando un PV promedio al final de experimento de 24.16, consistente con los estudios mencionados.

Schweigert y Zucker (1988) encontraron que las concentraciones de BC y retinol en el fluido folicular están altamente correlacionadas con el estradiol folicular, sugiriendo que la vitamina A, tiene un alto potencial para la modulación local del desarrollo folicular mediante estradiol. Se ha propuesto también que el BC afecta positivamente la maduración citoplasmática de los ovocitos en desarrollo, además de promover la expresión de receptores a gonadotropinas, la Ciclooxygenasa-2 y la oxido nítrico sintetasa a nivel ovárico. Adicionalmente, BC protege diversos grupos celulares en ovario del daño ocasionado por el efecto de radicales de oxígeno libre mediante un efecto natural antioxidante (Shuntaro et al., 2005). Adicionalmente, el ácido retinoico, ha demostrado ser un activador de la expresión de los receptores de FSH (Minegishi T et al., 2000 y Xing W y Sairam MR 2002) y LH (Hattori M et al., 2000 y Bagavandoss P, 1988) en células de la granulosa cultivadas in vitro.

Recientemente, Kawashima et al., (2008) reportaron cambios en las concentraciones de BC durante el período periparto entre vacas ovulatorias y anovulatorias en la primera oleada folicular postparto, reportando un decremento en los niveles séricos de BC decrecía entre la tercer semana preparto y la primera posparto en las vacas anovulatorias (2.97 vs. 1.43 mg L⁻¹, P<0.001). Estos resultados demuestran el efecto positivo que ejerce el BC sobre la reproducción y específicamente en la maduración de folículos; adicionalmente, tanto el BC como el retinol se encuentran en el fluido folicular en relación a la concentraciones sanguíneas sistémicas. Sin embargo, nuestros resultados no soportan evidencia alguna de que la suplementación de BC afecte positivamente el inicio de la pubertad en hembras caprinas.

La insulina está involucrada con el inicio de la pubertad en humanos, observando incrementos en los niveles de esta hormona metabólica en etapas previas al inicio de la pubertad (Sakurai et al., 2004). En cabras, las acciones de insulina aparentemente no están relacionadas al inicio de la pubertad (Schillo et al., 1992), sugiriendo el rol preponderante de otras moléculas como el ácido propionico, y algunos aminoácidos involucrados en el metabolismo de la energía. Los receptores a insulina se expresan en la mayoría de los tejidos del

Cuadro 1. Medias de mínimos cuadrados para peso vivo (PV, kg), condición corporal (CC, unidades), niveles séricos de insulina (ng mL⁻¹) y porcentaje de actividad ovárica (Pubertad, %¹) durante Junio (1), Julio (2), Agosto (3) y Septiembre (4) en cabritas prepúberes (n=17) suplementadas con Betacaroteno (BC) o Control (CONT) bajo fotoperiodo natural en la Comarca Lagunera (25 LN)

	Tratamientos			
	BC	CONT ²	NSO ³	EE ³
PV1	17.29 ^a	16.13 ^a	0.69	1.04
CC1	3.34 ^a	3.17 ^a	0.38	0.12
PV2	20.33 ^a	19.86 ^a	0.94	1.12
CC2	3.09 ^a	3.06 ^a	0.89	0.11
PV3	21.17 ^a	20.33 ^a	0.77	0.87
CC3	3.18 ^a	2.93 ^a	0.30	0.11
PV4	24.16 ^a	22.79 ^a	0.45	0.80
CC4	3.54 ^a	3.43 ^a	0.40	0.11
INSULINA	1.37 ^a	1.18 ^a	0.15	0.09
PUBERTAD	44.4 ^a	25.0 ^a	0.05	46.0

¹ Inicio de la pubertad = dos o más muestras consecutivas de suero con valores de progesterona eⁿ 1ng mL⁻¹

² NSO, nivel de significancia observado

³ EE, error estándar de medias de mínimos cuadrados más conservador

cuerpo, incluyendo las rutas metabólicas clásicas, tejidos musculares, hígado y tejido graso; además, se han encontrado receptores en puntos sensitivos como el sistema nervioso. En el sistema nervioso central, sus receptores muestran distintos patrones de expresión en el bulbo olfatorio, el hipotálamo y la pituitaria (Bruning *et al.*, 2000). Según Sakurai *et al.* (2004), la influencia de marcadores endocrinos como las concentraciones de glucosa en plasma, ácidos grasos no esteroidales, ácido acético, cetonas e insulina no muestran un particular cambio relacionado con el inicio de la pubertad.

No existieron diferencias entre los promedios globales de las concentraciones séricas de insulina entre los grupos experimentales. Sin embargo, el tiempo de muestreo afectó las concentraciones séricas de insulina, observando una diferencia en el patrón de secreción de esta hormona a favor del grupo suplementado con BC a partir del tiempo de tercer muestreo (Cuadro 2, Figura 1). En efecto, se observó una marcada diferencia durante la parte terminal del muestreo entre grupos experimentales a favor del grupo suplementado con BC. Sin embargo, este patrón de secreción generado por la suplementación exógena de BC no se relacionó positivamente con un inicio más temprano de la pubertad.

Cuadro 2. Medias de mínimos cuadrados para las concentraciones séricas de Insulina (INS) de acuerdo al tiempo de muestreo (TIEMPO) durante el período experimental Junio – Septiembre, en cabritas peripúberes (n=17) suplementadas con Betacaroteno (BB) o Control (CC) bajo fotoperiodo natural en la Comarca Lagunera

TIEMPO	BB	E.E.	CC	E E
1	0.615	0.172	0.768	0.182
2	0.932	0.172	1.075	0.182
3	1.161	0.172	1.125	0.182
4	2.098	0.172	1.35	0.182
5	1.731	0.172	1.37	0.182
6	1.692	0.172	1.39	0.182

BB=Grupo Beta caroteno CC= Grupo Control EE=Error Estandar

CONCLUSIONES

Ni el peso vivo (P=0.69) ni la condición corporal (P=0.38) difirieron entre grupos al inicio, durante y al final del período experimental. El porcentaje de cabras mostrando el inicio de la actividad reproductiva ó pubertad, así como los promedios de los niveles séricos

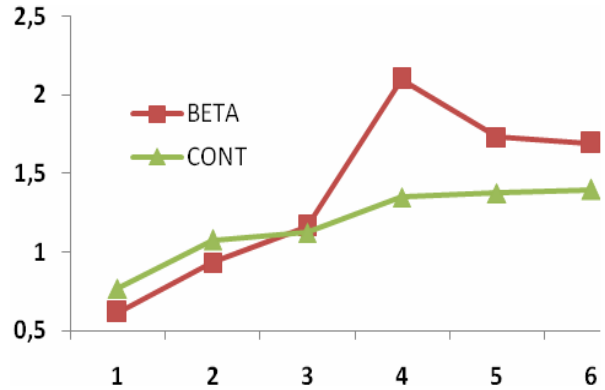


Figura 1. Concentraciones seriicas de Insulina (ng mL⁻¹) a través del tiempo en los grupos Control (CONT) y Betacaroteno (BC) durante el periodo experimental

de insulina a lo largo del período experimental, no difirieron (P>0.05) entre tratamientos. Sin embargo, se observó una diferencia significativa durante la parte terminal del muestreo entre grupos experimentales a favor del grupo suplementado con BC. Sin embargo, este patrón de secreción generado por la suplementación exógena de BC no se relacionó positivamente con un inicio más temprano de la pubertad en hembras caprinas.

LITERATURA CITADA

Arechiga C.F., Staples C.R., McDowell L.R., and P.J. Hansen. 1998. Effects of Timed Insemination and Supplemental b-Carotene on Reproduction and Milk Yield of Dairy Cows Under Heat Stress. *Journal of Dairy Science.* 81(2):245-249

Arellano-Rodriguez, G. Meza-Herrera C. A., Rodriguez-Martinez R., Dionisio-Tapia R., Hallford D. M., Mellado M. and A. Gonzalez-Bulnes. 2009. Short-term intake of b-carotene-supplemented diets enhances ovarian function and progesterone synthesis in goats. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition.* 93(6):710-715.

Bagavandoss P, Midgley AR, Jr. 1988. Biphasic action of retinoids on gonadotropin receptor induction in rat granulosa cells in vitro. *Life Sci.* 43: 1607–1614.

Berrie, R.A., Hallford, D.M., and Galyan, M.L. 1995. Effects of zinc source and level of performance, carcass characteristics, and metabolic hormone concentrations of growing and finishing lambs. *The Professional Animal Scientist.* 11:149-156.

Bronson FH. 1986. Food-restricted, prepubertal, female rats: rapid recovery of luteinizing hormone pulsing with excess food, and full recovery of pubertal development with gonadotropin-releasing hormone. *Endocrinology.* 118: 2483–2487.

- Bruning Jens C., Dinesh Gautam, Deborah J. Burks, Jennifer Gillette, Markus Schubert, Paul C. Orban, Rudiger Klein, Wilhelm Krone, Dirk Muller-Wieland, C. Ronald Kahn. 2000. Role of Brain Insulin Receptor in Control of Body Weight and Reproduction. *Science* 289: 2122.
- Cushwa, W.T., G.E. Bradford, G.H. Stabenfeldt, Y.M. Berger, and M.R. Rally. 1992. Ram influence on ovarian and sexual activity in anestrus ewes: effects of isolation of ewes from rams before joining and date of ram introduction. *J. Anim. Sci.*, 70:1195-1200.
- Delgadillo J. A., De Santiago-Miramontes M. A. y E. Carrillo. 2007. Season of birth modifies puberty in female and male goats raised under subtropical conditions. *Animal* 1:6.
- Ebling Francis J P . 2005. The neuroendocrine timing of puberty. *Reproduction*. 129:675–683
- Foster DL, Ebling FJP, Micka AF, Vannerson LA, Bucholtz DC, Wood RI, Suttie JM, Fenner DE. 1989. Metabolic interfaces between growth and reproduction. I. Nutritional modulation of gonadotropin, prolactin, and growth hormone secretion in the growth-limited female lamb. *Endocrinology*. 125: 342–350.
- Foster DL. 1994. Puberty in the sheep. In: Knobil E, Neill JD (eds.), *The Physiology of Reproduction* (2nd ed). II. New York: Raven Press. 411–451.
- Gamez-Vazquez HG, Rosales-Nieto CA, Bañuelos-Valenzuela R, Urrutia-Morales J, Diaz-Gomez MO, Silva-Ramos JM, Meza-Herrera CA. 2008. Body condition score positively influence plasma leptin concentrations in criollo goats. *J Anim Vet Adv*. 7(10):1237-1240.
- Gong. J. G. 2002. Influence of metabolic hormones and nutrition on ovarian follicle development in cattle: practical implications. *Domestic Animal Endocrinology*, 23(2):229.
- Guerra-García, M., C.A. Meza-Herrera, M.T. Sanchez-Torres-Esqueda, J. Gallegos-Sanchez, G. Torres-Hernandez and A. Pro-Martinez. 2009. IGF-1 and ovarian activity of goats in divergent body condition and supplemented with non-degradable ruminal protein. *Agrociencia*. 43(3): 241-247.
- Harney, J.P., Mirando, M.A., Smith, L.C., Bazer, F.W., 1990. Retinol-binding protein: a major secretory product of the pig conceptus. *Biol. Reprod.* 42, 523–532.
- Hattori M, Takesue K, Nishida N, Kato Y, Fujihara N. 2000. Inhibitory effect of retinoic acid on the development of immature porcine granulosa cells to mature cells. *J Mol Endocrinol*. 25: 53–61.
- Kawashima, C. K. Kida a, F.J. Schweigert C. A. Miyamoto. 2008. Relationship between plasma beta carotene concentrations during the peripartum period and ovulation in the first follicular wave postpartum in dairy cows, *Anim. Reprod. Sci.*, doi:10.1016
- Matamoros IA, Cox NM y Moore AB. 1990. Exogenous insulin and additional energy affect follicular distribution, follicular steroid concentrations and granulosa cell hCG-binding in swine. *Biol. Reprod.* 43:1-7.
- Meza-Herrera CA, Hallford DM, Ortiz JA, Cuevas RA, Sanchez JM, Salinas H, Mellado M, Gonzalez-Bulnes A. 2008. Body condition and protein supplementation positively affect periovulatory ovarian activity by non-LH mediated pathways in goats. *Anim Reprod Sci.* 106:412-420.
- Meza-Herrera CA, Ross T, Hallford DM, Hawkins D, Gonzalez-Bulnes A. 2007. Effects of body condition and protein supplementation on LH secretion and luteal function in sheep. *Reprod Dom Anim*. 42(5):461-465.
- Meza-Herrera CA, Sanchez JM, Chavez-Perches JG, Salinas H, Mellado M. 2004. Protein supplementation, body condition and ovarian activity in goats. Preovulatory serum profile of insulin. *South Afric J Animal Sci.* 34(Suppl. 1):223-226.
- Minegishi T, Hirakawa T, Kishi H, Abe K, Tano M, Abe Y, Miyamoto K. 2000. The mechanisms of retinoic acid-induced regulation on the follicle-stimulating hormone receptor in rat granulosa cells. *Biochim Biophys Acta*. 1495: 203–211.
- NRC. 1998. Nutrient requirements of goats: Angora, dairy and meat goats in temperate and tropical countries. 1ra Edición. National academy Press. Washington.
- Rodríguez Amaya DB., 1999. Changes in carotenoids during processing and storage of foods. *Arch Latinoam Nutr* 49:38S–47S
- Sakurai K, Ohkura S, Matsuyama S, Katoh K, Obara Y and Okamura H. 2004. Body Growth and Plasma Concentrations of Metabolites and Metabolic Hormones during the Pubertal Period in Female Shiba Goats. *J. Reprod. Dev.* 50(2): 197–205,
- Sales J.N.S., L.M.K. Dias, A.T.M. Viveiros, M.N. Pereira, J.C. Souza. 2008. Embryo production and quality of Holstein heifers and cows supplemented with betacarotene and tocopherol. *Anim. Reprod. Sci.* 106: 77–89.
- SAS 1991. SAS/SAT user's guide. SAS Institute, Inc. Cary, N.C.
- Schillo KK, Hall JB, Hileman SM. 1992. Effects of nutrition and season on the onset of puberty in the beef heifer. *J Anim Sci.* 70: 3994–4005.
- Schneider, F. A.; Hallford, D. M., 1996. Use of a rapid progesterone radioimmunoassay to predict pregnancy and fetal numbers in sheep. *Sheep & Goat Res. J.* 12, 33–38.
- Schweigert FJ, Zucker H. 1988. Concentrations of vitamin A, beta-carotene and vitamin E in individual bovine follicles of different quality. *J Reprod Fertil.* 82:575–579.
- Shuntaro IKEDA, Masayuki KITAGAWA, Hiroshi IMAI and Masayasu YAMADA. 2005. The Roles of Vitamin A for Cytoplasmic Maturation of Bovine Oocytes. *Journal of Reproduction and Development*, 51(1):114-122
- Snedecor GW, and Cochran WG, 1967. *Statistical Methods*. 6th ed. The Iowa State Univ. Press, Ames.
- Stahl, W., Nicolai, S., Briviba, K., Hanusch, M., Broszeit, G., Peters, M., Martin, H.D., Sies, H., 1997. *Biological*

- activities of natural and synthetic carotenoids: induction of gap junctional communication and singlet oxygen quenching. *Carcinogenesis* 18, 89–92.
- Suttie JM, Foster DL, Veenvliet BA, Manley TR, Corson ID. 1991. Influence of food intake but independence of body weight on puberty in female sheep. *J Reprod Fertil.* 92: 33–39.
- Tokach MD, Pettigrew JE, Dial GD, Wheaton JE, Crooker BA and Johnston LJ. 1992. Characterization of luteinizing hormone secretion in the primiparous, lactating sow: relationship to blood metabolites and return-to-estrus interval *Journal of Animal Science* 70 (21)95-101
- Weng, B.C., Chew, B.P., Wong, T.S., Park, J.S., Kim, H.W., Lepine, A.J., 2000. betacarotene uptake and changes in ovarian steroids and uterine proteins during the estrous cycle in the canine. *J. Anim. Sci.* 78, 1284–1290.
- Xing W, y Sairam MR. 2002. Retinoic acid mediates transcriptional repression of ovine follicle stimulating hormone receptor gene via a pleiotropic nuclear receptor response element. *Biol Reprod.* 67: 204–211.