

# Desarrollo folicular y tasa ovulatoria en cabras criollas después de un periodo corto de consumo de trigo protegido de la degradación ruminal

## Follicular development and ovulation rate in Creole goats after short-term consumption of wheat protected from ruminal degradation

Xochitl Pastrana Martínez<sup>a</sup>, Martín Ramírez Sánchez<sup>a</sup>, Juan López<sup>b</sup>, Eugenio Villagómez-Amezcu Manjarrez<sup>b</sup>, Everardo González Padilla<sup>c</sup>, Héctor Raymundo Vera Ávila<sup>b</sup>

### RESUMEN

Se evaluó el efecto de consumo de trigo protegido contra la degradación ruminal sobre la actividad ovárica. Cuarenta (40) cabras criollas recibieron 11 días previos al estro 33.2 g/kg<sup>.75</sup> de trigo cristalino mezclado con formaldehído al 5% y 15 % de sebo saponificado (TT) o trigo cristalino molido, y por separado 15 % de sebo saponificado (TST). Los días 0, 2, 4 y 6 post-estro se caracterizaron las poblaciones foliculares ováricas, y el día 9 el número de ovulaciones. Se colectaron muestras sanguíneas seriadas post-consumo de trigos en cuatro animales/grupo determinándose las concentraciones séricas de insulina y glucosa. Para el análisis estadístico se aplicó la Prueba de Fisher o ANDEVA para un diseño completamente al azar. No se encontraron diferencias ( $P > 0.20$ ) en el número de ovulaciones ni en las concentraciones de glucosa post-consumo de trigos. Las concentraciones de insulina fueron mayores ( $P < 0.05$ ) en el grupo TT vs TST durante el periodo de 0-8 h post-consumo de trigos (6.61 vs 4.82  $\mu\text{UI/ml}$ ). El número de folículos  $< 4$  mm el día 0 post-estro fue mayor en TT vs TST (7.60 vs 7.00 folículos;  $P < 0.01$ ) y el número de folículos totales al día 0 y el diámetro del 2do folículo en tamaño al día 6 post-estro tendieron a ser mayores en TT vs TST (9.70 vs 9.21 folículos y 2.89 vs 2.75 mm;  $P < 0.10$ ). El consumo por periodos cortos de TT, es capaz de influenciar el desarrollo folicular en cabras criollas sin alterar la tasa ovulatoria o el ingreso de glucosa a la circulación periférica, pero sí incrementando temporalmente la secreción de insulina.

**PALABRAS CLAVE:** Cereales, Desarrollo folicular, Tasa ovulatoria, Cabras.

### ABSTRACT

To determine ovarian effects after consumption of wheat protected from ruminal degradation, 40 Creole female goats received for 11 d before a synchronized estrous, 33.2 g/kg<sup>.75</sup> of durum wheat treated with 5 % formaldehyde and mixed with 15 % saponified tallow (TW, n=20) or milled durum wheat and separately 15 % saponified tallow (NTW, n=20). Ovarian follicular populations were characterized on d 0, 2, 4 & 6 post-estrus through ultrasound and ovulatory rate estimated on d 9 through CL count after abdominal laparoscopy. Serial blood samples were collected in four animals per experimental group from 0 to 12 h after wheat intake and serum glucose & insulin concentrations were determined. Data were analyzed through Fisher Exact Test or ANOVA for a completely randomized design. Serum glucose and total ovulations did not differ ( $P > 0.20$ ) between experimental groups. Serum insulin was higher ( $P < 0.05$ ) in TW vs NTW during the 0 to 8 h period after wheat intake (6.61 vs 4.82  $\mu\text{UI/ml}$ ). TW group showed more follicles  $< 4$  mm on d 0 post-estrus (7.60 vs 7.00 follicles in TW vs NTW;  $P < 0.01$ ), and both, number of total follicles on d 0 and the diameter of the 2<sup>nd</sup> follicle according to size on d 6 post-estrus tended to be greater in TW (9.70 vs 9.21 follicles and 2.89 vs 2.75 mm in TW vs NTW;  $P < 0.10$ ). Short-term TW intake could influence follicular development in Creole goats without altering ovulation rate or glucose entry to systemic circulation but might increase temporary secretion of insulin.

**KEY WORDS:** Protected grains, Follicular development, Ovulation rate, Goats.

Recibido el 31 de noviembre de 2007. Aceptado para su publicación el 12 de febrero de 2008.

<sup>a</sup> Unidad de Investigación en Producción Animal, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México, Km 3, Carretera a Colón, Ajuchitlán, Colón, Qro. 76280, México. vera.hector@inifap.gob.mx. Correspondencia al sexto autor.

<sup>b</sup> Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología Animal, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.

<sup>c</sup> Departamento de Reproducción Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México.

El presente trabajo forma parte de la tesis de maestría del primer autor.

El incremento en el consumo de energía o de energía más proteína por periodos cortos, puede inducir una respuesta reproductiva positiva en los ovinos al aumentar el número de ovulaciones<sup>(1)</sup>. El efecto anterior conocido como “flushing corto”, puede expresarse después de aumentar el consumo de suplementos altos en energía, o por administración intravenosa de glucosa por periodos de 4 a 6 días cuando se inicia justo antes de la luteólisis natural o inducida<sup>(1,2)</sup>. En relación al efecto de “flushing”, se ha propuesto que el aumento en el ingreso de glucosa al torrente circulatorio o el estímulo que esto ocasiona para la secreción endógena de insulina, representan importantes mediadores de esa respuesta<sup>(3,4,5)</sup>. Se ha demostrado que la insulina puede favorecer la secreción endógena de gonadotropinas<sup>(6,7)</sup> o estimular directamente a nivel ovárico el proceso de desarrollo folicular<sup>(8,9)</sup>. Asimismo, se ha sugerido que la cantidad de glucosa disponible para uso tisular puede implicar efectos directos de este metabolito sobre la función ovárica<sup>(2)</sup> y sobre la función hipotálamo-hipofisiaria relacionada con la secreción de gonadotropinas<sup>(10)</sup>.

La principal fuente dietética de glucosa en los rumiantes mantenidos en estabulación, es el almidón contenido en los granos de los cereales, los cuales pueden tener entre 57 a 77 % de este compuesto<sup>(11)</sup>. En el rumen, la mayor parte del almidón es fermentado por los microorganismos ruminales hasta ácidos orgánicos, que son utilizados a nivel hepático como elementos energéticos (principalmente el ácido propiónico). Del almidón de la dieta, sólo una pequeña parte pasa al intestino delgado en donde puede ser digerido hasta glucosa, la cual entonces puede ser absorbida hacia la circulación portal<sup>(12)</sup>. El grado en el que el almidón de los granos de cereales es fermentado a nivel ruminal o digerido hasta glucosa a nivel intestinal depende de una interacción compleja entre diversos factores. Los que se consideran más importantes son el tipo y variedad de cereal, la composición general de la dieta, el grado de adaptación de la microbiota ruminal a ésta, la cantidad de alimento consumido por unidad de tiempo y las alteraciones mecánicas (procesamiento, masticación) o químicas (grado de hidratación, gelatinización) de los granos<sup>(13)</sup>. La aplicación de tratamientos a base de formaldehído

Increase of energy or of energy and protein intake for short periods could induce a positive reproductive response in ovines by increasing the ovulation rate<sup>(1)</sup>. This effect, known as “short flushing” can express itself after an increase of high energy intake or by intravenous glucose infusion for 4 to 6 d just before natural or induced luteolysis<sup>(1,2)</sup>. Relative to this flushing effect it has been suggested that an increase in the entry of glucose to the bloodstream and/or its stimulus on endogenous insulin secretion could mediate this response<sup>(3,4,5)</sup>. It has been shown that insulin can influence gonadotrophin endogenous secretion<sup>(6,7)</sup> or directly stimulate follicle development at the ovarian level<sup>(8,9)</sup>. Besides, it has been suggested that the amount of available glucose for use at the cellular level could imply direct effects of this metabolite on the ovarian function and on the hypothalamic – hypophysial function related to gonadotrophin secretion<sup>(10)</sup>.

The main source of glucose in stabled ruminants is starch from grains, which can contain 57 to 77 %<sup>(11)</sup>. In rumen, most of the starch is transformed by ruminal microorganisms into organic acids, which are used in liver as energy elements (as propionic acid mainly). Only a very small part of diet starch enters the small intestine to be digested to glucose, which can then be absorbed towards the portal circulation<sup>(12)</sup>. The rate of fermentation in rumen or digestion in the small intestine is dependent on a complex interaction between several factors. Of these the more important are cereal type and variety, diet composition, the degree of adaptation of microbiota to the diet, the amount of food intake in a given time period and mechanical alterations (processing, mastication) or chemical (hydration rate, gelatinization) of grains. Treatments based on formaldehyde or saponified fats can reduce the ruminal degradation rate of grain starch, first due to a chemical reaction and second due to a covering effect in grains and therefore mixing is required when saponified fats are used<sup>(13,14)</sup>. Using both methods in combination, reduces wheat's dry matter *in vitro* degradation in up to 35 %<sup>(15)</sup>. Protection through these methods can promote a greater starch entry to the small intestine and of glucose to the bloodstream; this will produce an increase in insulin

o de grasas saponificadas puede reducir la tasa de degradación ruminal del almidón de los granos de cereales, el primero por una reacción química con el almidón de los granos y las segundas por un efecto físico de recubrimiento de estos por lo que requieren mezclarse<sup>(13,14)</sup>. El uso combinado de estos dos agentes protectores, reduce la degradación *in vitro* de la materia seca de trigos hasta en un 35 %<sup>(15)</sup>. La protección con el uso de estos métodos, puede promover una mayor afluencia de almidón al intestino delgado y de glucosa hacia el torrente circulatorio; esto se reflejará en un aumento en la secreción de insulina induciendo efectos positivos sobre la función ovárica<sup>(7,8,9)</sup>.

De acuerdo a lo anterior, el objetivo de este trabajo fue determinar si el consumo por periodos cortos de almidón protegido contra la degradación ruminal, incrementa la glicemia y la secreción endógena de insulina, modificando el proceso de desarrollo folicular y la tasa ovulatoria en cabras durante la estación reproductiva.

El estudio se realizó durante el mes de octubre en las instalaciones del Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología Animal (INIFAP) en Ajuchitlán, Colón Querétaro, a 20° 42' N y 100° E, a 1,990 msnm, clima semiseco templado, temperatura media anual de 15 °C y precipitación pluvial anual de 460 a 630 mm<sup>(16)</sup>.

Se utilizaron 40 cabras criollas adultas (2.5 a 3 años) no gestantes, no lactantes, con un peso vivo de  $26.1 \pm 0.65$  kg y condición corporal de  $3.0 \pm 0.1$  (1 emaciada, 5 obesa)<sup>(17)</sup>. Antes del inicio del periodo experimental los animales fueron tratados contra parásitos internos (Ivomec F, Prosalud) y se trataron con una preparación comercial de vitaminas A, D y E (Aderovet, Roussel), para posteriormente ser asignados, de acuerdo a su condición corporal, a recibir como suplemento alimenticio: 1) trigo cristalino tratado (TT, n=20); trigo rolado en seco variedad pavón tratado con una solución de formaldehído al 5 % (14 ml/100 g de materia seca) y mezclado con 15 % de sebo saponificado; 2) trigo cristalino sin tratar (TST, n=20); trigo rolado en seco variedad pavón molido con criba fina (0.5 mm) y aparte, sin mezclar, lo correspondiente a 15 % de sebo saponificado.

secretion, inducing positive effects on the ovarian function<sup>(7,8,9)</sup>.

In accordance with all this, the objective of the present study was to determine if short time intake of protected starch increases glycemia and endogenous insulin secretion, modifying follicle development and ovulation rate in goats during the mating season.

The present study was carried out in October at INIFAP's CENID Fisiología Animal in Querétaro, Mexico (1,990 m asl, 15 °C average mean annual temperature, semidry temperate climate, 460 to 630 mm average annual rainfall, 20° 42' N, 100° 00' W)<sup>(16)</sup>.

A total of 40 adult (2.5 to 3 years old) Creole non pregnant female goats were used,  $26.1 \pm 0.65$  kg and  $3.0 \pm 0.1$  body condition score<sup>(17)</sup>. Prior to the beginning of the experiment animals were de-wormed with Ivomec F (Prosalud) and given a commercial ADE vitamin preparation (Aderovet, Roussel). Afterwards, in accordance with body condition they were allotted to be given dietary supplements: 1) treated durum wheat (TT n=20), dry rolled wheat (Pavón var.) treated with formaldehyde 5 % (14 ml/100 g DM mixed with 15 % saponified tallow); 2) untreated durum wheat (TST, n=20), dry rolled wheat (Pavón var.) fine mesh (0.5 mm) and separately, 15 % saponified tallow.

The supplement belonging to each treatment was offered as the first meal each day, when animals were still in individual pens (0800 to 1100). The amount allotted to both groups ( $33.2 \text{ g/kg}^{.75}/\text{d}$ ) was set to provide 99 g/d of non ruminal degradable starch on average to the animals in group TT. This takes into account results of previous studies of *in situ* ruminal degradation of durum wheat<sup>(15)</sup> and of the effect of non ruminal degradable starch intake on ovarian function in ovines<sup>(18)</sup>.

The nutrients needed to complete basic maintenance requirements (100 %) were provided through ground alfalfa hay (35 g/animal/d) and maize stover (500 g/animal/d) and free access to water and minerals. Like this, theoretical energy intake from supplements represented 65 % of total energy in the diet.

El suplemento correspondiente a cada tratamiento se ofreció como primer alimento del día mientras los animales eran retenidos en corraletas individuales (8:00 a 11:00 AM). La cantidad asignada en ambos grupos (33.2 g/kg<sup>.75</sup>/d), se estableció para aportar en promedio 99 g/día de almidón no degradable en rumen a los animales del grupo TT. Lo anterior considerando resultados de estudios previos de degradación ruminal *in situ* de trigo cristalino tratado en forma similar a la del presente experimento<sup>(15)</sup> y del efecto de consumo de almidón no degradable en rumen sobre la función ovárica en ovinos<sup>(18)</sup>. El resto de la alimentación para cubrir el 100 % de los requerimientos de mantenimiento<sup>(19)</sup>, consistió en el suministro individual de heno de alfalfa picado (35 g/día) y en forma colectiva rastrojo de maíz en greña (consumo promedio de 500 g/cabra/día) más agua fresca y una mezcla de minerales a libre acceso. De esa manera, el aporte teórico de energía a partir del suplemento representó el 65 % del total de energía de la ración.

La duración del periodo experimental fue de 21 días, incluyendo en éste 5 días de adaptación al suplemento (TT o TST), el cual se fue incrementando 20 % por día hasta completar el 100 % de lo previsto. Al término del periodo de adaptación a la dieta (día 6), se inició un protocolo de sincronización estral (esponjas intravaginales con flurogestona por 9 días más aplicación de una dosis luteolítica de prostaglandinas F2a el día 7), buscando con esto que el estro sincronizado ocurriera aproximadamente a los 11 días después de consumir el 100 % de los suplementos TT o TST.

La detección del estro sincronizado se inició a partir del segundo día de retiradas las esponjas, por observación directa durante la tarde y con el apoyo de un macho entero adulto cubierto con un peto para evitar la cópula. Se realizaron ultrasonografías transrectales (Ultrasonido Aloka 500; transductor rectal de 5 Mhz/64 mm, UST-657-5) antes de la ovulación post-tratamiento y durante la primera oleada de desarrollo folicular, para caracterizar las poblaciones de folículos antrales ováricos el día del estro sincronizado y los días 2, 4 y 6 después de éste. Las imágenes ultrasono-

The experiment lasted 21 d, including 5 d for adaptation to supplement (both TT and TST), which was increased by 20 % every day up to 100 %. At the end of the adaptation period (d 6), an estrus synchronization protocol was started (intravaginal sponges with flurogestone acetate for 9 d plus a luteolytic prostaglandin F2a dose on d 7) in search of a synchronized estrus 11 d after 100 % supplement intake of both TT and TST.

Detection of synchronized estrus began on the second day post sponge removal through direct observation in the afternoon and with the help of a male protected with an apron to avoid coitus. Transrectal ultrasonographies (Aloka 500 Ultrasonograph; 5 Mhz/64 mm rectal transducer, UST-657-5) were performed before post-treatment ovulation and during the first wave of follicle development, to characterize antral follicular populations on the day of synchronized estrus and on d 2, 4 and 6 post. Ultrasonographies were printed (Sony Videoprinter, UP-870MD) and analyzed to determine antral follicles total (FT), number of follicles <4 mm diameter (FMN), number of follicles ≥4 mm diameter (FMY), diameter of the largest follicle (DFM1) and of the second follicle in size (DFM2). To estimate the number of ovulations which took place during the synchronized estrus, on d 9 corpora lutea total was determined through medial ventral laparoscopy. Taking into account corpora lutea number, goats were graded in animals with one or with more than one ovulation for analysis of this response. In eight animals (3 from group TT and 5 from group TST), it was not possible to characterize corpora lutea number or follicle populations and therefore were not considered in the corresponding statistical analyses. This was due to presence of ovarian adherences which made laparoscopic revision difficult or due to estrus detection failure.

Changes in follicle population and number of ovulations were complemented with studies on changes in serum glucose and insulin concentrations. For this, on d 21 blood samples of four animals in each treatment were taken between 0 and 12 h after being fed supplements. The initial sample (0 h) was taken after an 18 h fast, and immediately



gráficas fueron impresas en papel (Videoimpresora Sony, UP-870MD) y analizadas para determinar el número total de folículos antrales (FT), número de folículos < 4 mm (FMN), número de folículos  $\geq$  4 mm (FMY), diámetro del folículo mayor (DFM1) y del segundo folículo en tamaño (DFM2). Para estimar el número de ovulaciones ocurridas durante el estro sincronizado, el día 9 post-estro se determinó por medio de laparoscopia ventral media el número total de cuerpos lúteos. A partir del número de cuerpos lúteos, se clasificaron las cabras en animales con una o más de una ovulación para el análisis de esta respuesta. En ocho animales del total (3 del grupo TT y 5 del grupo TST), no fue posible caracterizar el número de cuerpos lúteos o las poblaciones foliculares por día post-estro y debido a ello no fueron considerados en los análisis estadísticos correspondientes. Lo anterior, debido a la presencia de adherencias ováricas que dificultaron la revisión laparoscópica o por fallas en identificar el día de presentación del estro.

Los cambios en las poblaciones foliculares y número de ovulaciones fueron complementados con la determinación de los cambios en las concentraciones séricas de insulina y glucosa. Para lo anterior, el día 21 se obtuvieron muestras sanguíneas de cuatro animales por tratamiento entre las 0 a 12 h después del consumo de los suplementos evaluados. Las muestra inicial (hora cero), se obtuvo después de 18 h de ayuno e inmediatamente antes de ofrecer el suplemento. Posteriormente, se aplicó la siguiente frecuencia de muestreo: entre las 6 y 8 h, cada hora; entre las 8 y 10 h, cada 15 min y entre las 10 y 12 h, cada hora. La frecuencia de muestreo se estableció considerando experiencias previas obtenidas con ovinos por otros investigadores<sup>(15)</sup>, que midieron la dinámica de flujo a duodeno del almidón de trigo tratado con formaldehído y grasa saponificada. Las muestras de suero fueron obtenidas de sangre extraída por punción yugular, utilizando tubos vacutainer con gel separador activador de la coagulación, mantenida en refrigeración durante un periodo no mayor a 2 h antes de ser centrifugada (2,500 xg/10 min). Los sueros se conservaron en congelación (-20 °C) hasta su análisis. La concentración de insulina se determinó mediante un sistema de radioinmu-

before being fed with the supplement. Afterwards, samples were taken in accordance with the following schedule: between 6 and 8 h, every hour; between 8 and 10 h, every 15 min and between 10 and 12 h, every hour. Sampling frequency was set taking into account previous experiences of other researchers in ovinos<sup>(15)</sup>, who rated the flow dynamics of wheat starch treated with formaldehyde and saponified tallow to the duodenum. Serum samples were obtained from jugular blood (jugular vein-puncture using Vacutainer tubes provided with a separating gel that activates coagulation), kept in refrigeration for 2 h max before centrifugation (2,500 xg/10 min). Sera were kept frozen (-20 °C) until analyzed. Insulin concentration was determined through solid phase radioimmunoanalysis (Immuchen Coated Tube Insulin RIA; ICN Pharmaceuticals, Inc.), with intra and inter assay variations of 8.5 % and 10.0 %, respectively. Glucose concentration was determined by means of Bayer's Sera-Pak Glucose 6634 colorimetric method.

Minimum (GMN and IMN), Maximum (GMX and IMX) and Mean (GMD and IMD) serum glucose and insulin concentrations for each analyte were estimated from serum glucose and insulin concentrations during the sampling period, as well as differences between its maximum and minimum concentrations (GDF and IDF). Besides, mean glucose and insulin concentrations were calculated for the subsequent to wheat supplement feeding 0-8 , 8-10 and 10-12 h periods. These values were used as response variables in statistical analyses. In case of continuous variables, statistical analysis was performed through completely randomized designs analysis of variance with treatment effect as its only factor. For number of animals with one or more ovulations, comparison between treatments was performed through Fisher's exact test, due to the small size of the sample<sup>(20)</sup>.

No significant differences ( $P > 0.05$ ) were found between treatments for serum glucose and insulin mean, minimum and maximum concentrations in the sampling period (0-12 h after supplement intake), nor for differences between maximum and minimum concentrations for the same periods (Tables 1 and 2). Also, no differences between

Cuadro 1. Medias de cuadrados mínimos de variables indicadoras de cambios post-prandiales en las concentraciones séricas de glucosa (mM/l) en cabras consumiendo trigo cristalino protegido de la degradación ruminal (TT, n= 4) o sin proteger (TST, n= 4)

Table 1. Least square means of variables indicating post-prandial changes in serum glucose concentrations (mM/l) in goats fed with durum wheat protected (TT, n= 4) or unprotected (TST, n= 4) from ruminal degradation

	TT	TST	SEM	P
GMD	3.44	3.58	0.14	0.49
GMN	1.75	2.62	0.66	0.33
GMX	4.02	4.52	0.25	0.21
GDF	2.27	1.90	0.67	0.68

GMD= mean glucose concentration during the sampling period; GMN= minimum glucose concentration during the sampling period; GMX= maximum glucose concentration during the sampling period; GDF= difference between GMX and GMN; SEM= standard error of the mean.

noanálisis en fase sólida (Immuchen Coated Tube Insulin RIA; ICN Pharmaceuticals, Inc.), con coeficientes de variación intra- e inter-ensayo de 8.5 y 10 % respectivamente. La concentración de glucosa fue medida utilizando el método colorimétrico Sera-Pak Glucosa 6634, de Bayer.

A partir de las concentraciones séricas de glucosa e insulina se estimaron las concentraciones mínimas (GMN e IMN), máxima (GMX e IMX) y media (GMD e IMD) para cada analito durante el periodo de muestreo, así como la diferencia entre sus concentraciones máximas y mínimas (GDF e IDF). Asimismo, se calcularon las concentraciones promedio de glucosa e insulina para los periodos de 0-8, 8-10 y 10-12 h posteriores al consumo de los suplementos de trigo. Los valores anteriores fueron utilizados como variables de respuesta en los análisis estadísticos. En el caso de las variables continuas, el análisis estadístico se hizo mediante análisis de varianza para diseños completamente al azar con el efecto de tratamiento como único factor. Para el número de animales con una o más de una ovulación, la comparación entre tratamientos se hizo

Cuadro 2. Medias de cuadrados mínimos de variables indicadoras de cambios post-prandiales en las concentraciones séricas de insulina ( $\mu$ UI/ml) en cabras consumiendo trigo cristalino protegido de la degradación ruminal (TT, n= 4) o trigo sin proteger (TST, n= 4)

Table 2. Least square means of variables indicating post-prandial changes in serum insulin concentrations ( $\mu$ UI/ml) in goats fed with durum wheat protected (TT, n= 4) or unprotected (TST, n= 4) from ruminal degradation

	TT	TST	SEM	P
IMD	4.83	5.28	1.18	0.80
IMN	0.46	0.83	0.20	0.71
IMX	15.75	17.22	2.71	0.25
IDF	15.29	16.39	2.61	0.78

IMD= mean insulin concentration during the sampling period; IMN= minimum insulin concentration during the sampling period; IMX= maximum insulin concentration during the sampling period; IDF= difference between IMX and IMN; SEM= standard error of the mean.

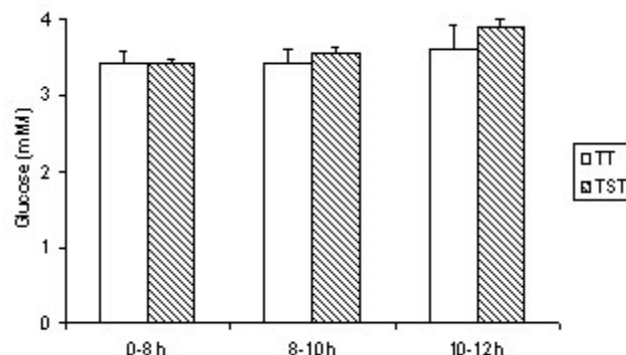
treatments for mean serum glucose concentrations in the three periods after supplement intake were found (Figure 1). However, significant differences ( $P < 0.05$ ) between treatments in mean serum insulin concentrations were found for TT vs TST in the 0-8 h period (6.6 and 4.8  $\mu$ UI/ml)(Figure 2).

Relative to the number of ovulations during synchronized estrus (Table 3), no case of more than two ovulations per goat was found and percentages of animals showing one or two ovulations was similar ( $P > 0.05$ ) between treatments (87.4 and 12.6 % showing one or two ovulations, irrespective of treatment).

Relative to follicle population characteristics, no differences between TT vs TST were found in d 2 and 4 post synchronized estrus. Average values were the following: total follicles, 6.73 and 5.97; follicles  $\geq 4$ mm, 0.21 and 0.22; largest follicle size, 3.35 and 3.38 mm and for second largest size follicle, 2.94 and 2.94 mm, respectively. On the day of synchronized estrus (day 0), no treatment effect ( $P > 0.20$ ) was found neither for follicles 4

Figura 1. Medias de cuadrados mínimos ( $\pm$  e.e.m.) de la concentración sérica promedio de glucosa (mM/l) en cabras a diferentes periodos posteriores al consumo de trigo cristalino protegido de la degradación ruminal (TT, n=4) o trigo sin proteger (TST, n=4). Tratamiento,  $P > 0.05$

Figure 1. Least squares means ( $\pm$  standard error of the mean) of mean serum glucose concentration (mM/l) in goats during different periods after intake of durum wheat protected (TT, n = 4) or unprotected (TST, n = 4) from ruminal degradation. Treatment,  $P > 0.05$



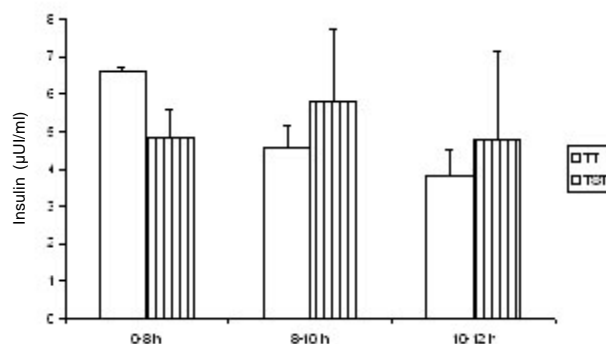
mediante la prueba exacta de Fisher debido al tamaño reducido de la muestra<sup>(20)</sup>.

No se encontraron diferencias ( $P > 0.05$ ) entre tratamientos en las concentraciones séricas promedio, mínima y máxima de glucosa e insulina durante el periodo de muestreo (0 a 12 h posteriores al consumo de suplementos), ni en las diferencias entre sus concentraciones máximas y mínimas durante el mismo periodo (Cuadros 1,2). Tampoco se observaron diferencias entre tratamientos en las concentraciones séricas promedio de glucosa durante los tres periodos posteriores al consumo de los suplementos evaluados (Figura 1). Sin embargo, en el caso de las concentraciones séricas promedio de insulina (Figura 2), sí se observaron diferencias entre tratamientos durante el periodo de 0 a 8 h (6.6 y 4.8  $\mu$ UI/ml en TT vs TST;  $P < 0.05$ ).

En relación al número de ovulaciones durante el estro sincronizado (Cuadro 3), en ningún caso se encontraron más de dos ovulaciones por cabra y los porcentajes de animales con una o dos ovulaciones fueron similares ( $P > 0.05$ ) entre

Figura 2. Medias de cuadrados mínimos ( $\pm$  e.e.m.) de la concentración sérica promedio de insulina ( $\mu$ UI/ml) en cabras a diferentes periodos posteriores al consumo de trigo cristalino protegido de la degradación ruminal (TT, n=4) o trigo sin proteger (TST, n=4). \* TT > TST en periodo 0-8 h,  $P < 0.05$

Figure 2. Least square means ( $\pm$  standard error of the mean) of mean serum insulin concentration ( $\mu$ UI/ml) in goats during different periods after intake of durum wheat protected (TT, n = 4) or unprotected (TST, n = 4) from ruminal degradation. \* TT > TST in 0 - 8 h period,  $P < 0.05$



mm nor for largest follicle diameter nor for second largest follicle size (Table 4). However, a greater number of <4 mm follicles was found (7.6 vs 7.1;  $P < 0.01$ ) and a trend to show a higher number of total follicles (9.7 vs 9.21;  $P = 0.09$ ) in the TT vs TST treatment (Table 4). On d 6 post synchronized estrus, only trend to present a greater diameter in the second largest follicle in the TT vs TST treatment was observed (2.89 vs 2.75 mm, respectively; Table 5).

In accordance with preliminary results in ovines<sup>(15)</sup>, it was estimated that in the present study durum wheat ruminal degradation could be reduced some 35 % in the formaldehyde and saponified tallow treatment. A consequence of this, would be an increased entry of starch to the small intestine and due to its' digestion by enzymes more available glucose would enter the bloodstream. However, no increases in peripheral glucose concentration were found in the 0-12 h period after protected wheat supplement intake. On the other hand, when maize treated with formaldehyde was included in lambs' diets (50 to 75 % DM) ruminal starch digestion

Cuadro 3. Porcentaje de cabras con una o dos ovulaciones posteriores al consumo de trigo protegido de la degradación ruminal (TT, n=17) o trigo sin proteger (TST, n=15)

Table 3. Percentage of goats showing one or two ovulations post intake of durum wheat protected (TT, n = 17) or unprotected (TST, n = 15) from ruminal degradation

Number of ovulations	Treatment	
	TT	TST
1	88.2(15/17)	86.7(13/15)
2	11.8 (2/17)	13.3(2/15)

Treatment,  $P>0.05$ .

Enclosed in brackets (number of goats/total)

tratamientos (87.4 y 12.6 % cabras con una y dos ovulaciones independientemente del tratamiento).

En cuanto a las características de las poblaciones foliculares, no se encontraron diferencias entre TT vs TST ( $P>0.20$ ) en los días 2 y 4 posteriores al estro sincronizado. Los valores promedio fueron: para folículos totales, 6.73 y 5.97; para folículos  $\geq 4$  mm, 0.21 y 0.22; para folículos  $< 4$  mm, 6.53 y 5.75; para diámetro del folículo mayor, 3.35 y 3.38 mm; y para diámetro del segundo folículo en tamaño, 2.94 y 2.94 mm, respectivamente. En el día del estro sincronizado (día 0), no se encontró efecto de tratamiento ( $P>0.20$ ) sobre el número de folículos  $\geq 4$  mm ni sobre los diámetros del folículo mayor o del segundo en tamaño (Cuadro 4). Sin embargo, si se observó un mayor número de folículos  $< 4$  mm (7.6 vs 7.1 folículos;  $P<0.01$ ) y una tendencia a presentar un mayor número de folículos totales (9.70 vs 9.21 folículos;  $P=0.09$ ) en el tratamiento TT vs TST (Cuadro 4). En el día 6 posterior al estro sincronizado, solamente se observó una tendencia a presentar un mayor diámetro del segundo folículo en tamaño en el tratamiento TT vs TST (2.89 vs 2.75 mm, respectivamente; Cuadro 5).

De acuerdo a resultados preliminares en ovinos<sup>(15)</sup>, se estimó que en el presente trabajo el tratamiento con formaldehído y sebo saponificado reduciría alrededor de 35 % la degradación ruminal del trigo cristalino. La consecuencia de lo anterior, sería

Cuadro 4. Medias de cuadrados mínimos del número de folículos totales (FT),  $\geq 4$  mm (FMY) y  $< 4$  mm (FMN) y de los diámetro del folículo mayor (DFM1) y segundo en tamaño (DFM2) en el día del estro sincronizado posterior al consumo de trigo cristalino protegido de la degradación ruminal (TT, n=17) o trigo sin proteger (TST, n=15)

Table 4. Least square means of total follicles (FT), follicles  $\geq 4$  mm (FMY) and  $< 4$  mm (FMN) and of diameters of the largest (DFM1) and second in size (DFM2) follicles on day of synchronized estrus after intake of durum wheat protected (TT, n = 17) or unprotected (TST, n = 15) from ruminal degradation

	TT	TST	SEM	P
FT	9.70	9.21	0.20	0.09
FMY	2.15	2.21	0.13	0.73
FMN	7.60	7.00	0.15	0.006
DFM1	4.56	4.51	0.07	0.64
DFM2	4.14	4.14	0.07	0.99

SEM = standard error of the mean.

Cuadro 5. Medias de cuadrados mínimos del número de folículos totales (FT),  $\geq 4$  mm (FMY) y  $< 4$  mm (FMN) y de los diámetro del folículo mayor (DFM1) y segundo en tamaño (DFM2) en el día 6 después del estro sincronizado posterior al consumo de trigo cristalino protegido de la degradación ruminal (TT, n=17) o trigo sin proteger (TST, n=15)

Table 5. Least square means of total follicles (FT), follicles  $\geq 4$  mm (FMY) and  $\geq 4$  mm (FMN) and diameters of the largest (DFM1) and second in size (DFM2) follicles on day 6 after synchronized estrus subsequent to intake of durum wheat protected (TT, n = 17) or unprotected (TST, n = 15) from ruminal degradation

	TT	TST	SEM	P
FT	5.70	5.92	0.17	0.33
FMY	0	0	—	—
FMN	5.70	5.92	0.17	0.33
DFM1	3.20	3.06	0.07	0.16
DFM2	2.89	2.75	0.05	0.07

SEM=standard error of the mean.



incrementar el ingreso de almidón a intestino delgado para que a partir de su digestión enzimática se aumentara la cantidad de glucosa disponible para ser absorbida hacia el torrente circulatorio. Sin embargo, no se encontraron incrementos en las concentraciones periféricas de glucosa en el periodo comprendido entre 0 y 12 h posteriores al consumo del suplemento de trigo protegido. En contraste, se observó que al incluir grano de maíz tratado con formaldehído en la dieta de borregos (50 a 75 % de la materia seca) se reducía en un 38 % la digestión ruminal de almidón y aumentaba la concentración de glucosa sanguínea en un 21 %<sup>(21)</sup>. Por otra parte, la infusión abomasal de un hidrolizado de almidón en novillos Holstein, provocó un incremento en la concentración de glucosa en la circulación portal a diferencia de cuando la infusión del hidrolizado era a nivel ruminal<sup>(22)</sup>.

En un experimento realizado en borregas para evaluar los efectos de una dieta alta en concentrado comparada con una dieta alta en forraje (isoenergéticas en función de la ración ofrecida), se observó una mayor glicemia post-prandial en la dieta alta en grano, tanto en animales jóvenes como en adultos gestantes<sup>(23)</sup>. El alto contenido de maíz entero y quebrado del concentrado utilizado en ese trabajo, implicó probablemente un mayor ingreso de almidón a duodeno que podría estar relacionado con el incremento post-prandial de glicemia encontrado<sup>(13)</sup>. Por otra parte y en concordancia con lo observado en el presente trabajo, el mismo grupo de investigadores, aplicando un protocolo similar de investigación, no encontró efectos de la dieta alta en grano sobre la glicemia post-prandial en borregas lactando<sup>(24)</sup>.

En algunas investigaciones con bovinos, la infusión abomasal de almidón (22.5 a 27.2 g/h) no indujo incrementos en la concentración sanguínea de glucosa a nivel periférico a pesar de aumentar el ingreso de glucosa a la circulación portal<sup>(25)</sup>. La ausencia de cambios en la glicemia periférica, puede estar relacionada con la capacidad efectiva de digestión del almidón y absorción de glucosa a nivel intestinal en rumiantes. Esa capacidad limitada evitaría una tasa de absorción de glucosa que aumente la glicemia periférica, aún cuando se incremente en forma importante el flujo de almidón a duodeno<sup>(26)</sup>.

was reduced some 38 % and blood glucose concentration increased some 21 %<sup>(21)</sup>. Also, abomasal infusion of starch hydrolysate in Holstein steers produced an increase in blood glucose concentration in portal circulation, contrary to what happened with ruminal infusion<sup>(22)</sup>. In a study carried out in ewes to assess effects of a diet high in grain vs high in forage (isoenergetic in function of the amount offered), a greater post-prandial glycemia was observed in the high grain content diet in both young and pregnant animals<sup>(23)</sup>. The high content of whole and broken maize kernels in the feed concentrate used in that study, most probably implied a greater entry of starch to the duodenum which in turn could be related to an increase in glycemia<sup>(13)</sup>. On the other hand and concurring with observations in the present study, the same group of researchers, using a similar research protocol, did not find any effects of a high grain content diet on post-prandial glycemia in lactating ewes<sup>(24)</sup>.

In other studies on bovines, abomasal infusion of starch (22.5 to 27.2 g/h) did not induce increase of blood glucose concentration at the peripheral level even though an increase of glucose entry to portal circulation<sup>(25)</sup>. Absence of changes in peripheral glycemia could be related to the limited digestion capacity of starch and of glucose absorption in the intestines in ruminants. This limited capacity could prevent a glucose absorption rate which could increase peripheral glycemia, even when the flow of starch to the duodenum increases significantly<sup>(26)</sup>. Irrespective of this, it should be considered that when treated grains are fed to diminish ruminal degradation, mastication can affect the protective capacity of treatments, as has been observed in formaldehyde treated grains<sup>(27)</sup>.

Relative to use of saponified tallow to protect wheat from ruminal degradation, in Holstein cows the effect of this treatment could produce even peripheral glycemia reduction<sup>(28)</sup>; in the present study that decrease was not observed, but no increase was seen either after feeding protected wheat. However, it should not be rejected that slight increases in glucose entry to portal circulation did occur, in this way temporarily increasing insulin endogenous

Independientemente de lo anterior, cabe considerar que cuando se suministran granos tratados para disminuir la degradación ruminal, el efecto de la masticación puede afectar la capacidad protectora de los tratamientos, como se ha observado en el caso de los granos tratados con formaldehído<sup>(27)</sup>.

En relación con el uso de grasa saponificada en el tratamiento para proteger el trigo de la degradación ruminal, se ha demostrado en vacas Holstein que la suplementación con este tipo de grasa puede ocasionar incluso una reducción en la glicemia a nivel periférico<sup>(28)</sup>; en el presente experimento no hubo disminución, pero tampoco se incrementaron las concentraciones de glucosa en la circulación periférica posterior al consumo del trigo protegido. Sin embargo, no se puede descartar por completo el que haya ocurrido un ligero aumento en el ingreso de glucosa a la circulación portal, y que éste haya podido incrementar temporalmente la secreción endógena de insulina. De otra manera, el aumento temporal en secreción de insulina observado en el grupo de animales consumiendo el trigo tratado, podría explicarse por el efecto incretino asociado a la absorción de glucosa a partir del intestino (mayor secreción de insulina cuando la glucosa es absorbida a partir del intestino por la secreción asociada de hormonas intestinales insulínótropas)<sup>(29)</sup>.

En cuanto a la concentración sérica de insulina, aunque no fue muy evidente el efecto de la suplementación con trigo protegido de la degradación ruminal, se observó aumento en la concentración de esta hormona durante el periodo de 0 a 8 h posteriores al consumo del trigo tratado. En forma similar, se observaron incrementos post-prandiales en la insulinemia al alimentar borregos con dietas altas en grano<sup>(23,24)</sup>, incremento que de acuerdo a los autores, pudo deberse al aumento en la producción de propionato ruminal, aunque posiblemente también pudo estar asociado al aumento en el ingreso de almidón al duodeno y a la absorción intestinal de glucosa. Por otro lado, las infusiones abomasales de hidrolizados de almidón en novillos, no indujeron cambios importantes en las concentraciones de insulina en plasma portal<sup>(22)</sup>. Asimismo, no se detectaron efectos sobre la insulinemia periférica en ovejas Booroola cruzadas

secretion. Like this, a temporary increase in insulin secretion in the animal group fed with treated wheat, could be explained through the “incretin” effect associated to glucose absorption from the intestine (greater insulin secretion when glucose is absorbed from the intestine due to the associated insulínotropic intestinal hormone secretion)<sup>(29)</sup>.

With reference to insulin serum concentration, although the effect of treated wheat was not evident, an increase in this hormone’s concentration in the 0–8 h post intake period was observed (Figure 2). Likewise, post-prandial increases in insulinemia were observed in studies on ewes fed with high grain content diets<sup>(23,24)</sup>, that according to their authors could be due to an increase in propionate production in the rumen, although it can be possible related also to an increase in starch entry to the duodenum and to intestinal glucose absorption. On the other hand, abomasal starch hydrolysate infusions in steers did not induce changes of importance in portal plasma insulin concentration<sup>(22)</sup>. Besides, no effects on peripheral insulinemia in crossbred Booroola ewes was observed after increasing the amount of non ruminal degradable starch in the diet<sup>(18)</sup>, or when bucks were fed high energy diets based on corn starch<sup>(30)</sup>.

It has been suggested that an increase in glucose and insulin plasma concentrations induced by modifications in diets, could favor gonadotrophin secretion<sup>(31)</sup>, and influence, either directly or indirectly, the follicle development process<sup>(32,33)</sup> and improve the ovulation rate<sup>(1,2,34)</sup>. Recent studies indicate that the effect of the insulin - glucose system at the follicle level involves an increase of glucose transporters 1 and 4 (GLUT 1 and GLUT 4) in sheep granulosa and theca cells and a corresponding increase in glucose uptake by the ovary<sup>(34,35)</sup>. It has been proposed that this effect, associated to an increase in blood leptin, induced by an increase in serum insulin concentration, brings about a decrease in estradiol secretion during the follicular phase of the estrus cycle. Like this, the negative feedback on FSH secretion decreases, stimulating folliculogenesis and eventually the ovulation rate<sup>(2)</sup>. In the present study, the ovulation rate did not suffer modifications owing to treated

al aumentar en la dieta la cantidad de almidón no degradable en rumen<sup>(18)</sup>, ni tampoco al alimentar machos caprinos con dietas altas en energía a base de almidón de maíz<sup>(30)</sup>.

Se ha sugerido que el aumento en las concentraciones plasmáticas de glucosa e insulina inducido por modificaciones en la dieta, puede favorecer la secreción de gonadotropinas<sup>(31)</sup>, directa o indirectamente, influir en el proceso de desarrollo folicular<sup>(32,33)</sup> y promover aumentos en la tasa ovulatoria<sup>(1,2,3,4)</sup>. Evidencias recientes indican que el efecto del sistema insulina-glucosa a nivel folicular involucra un aumento de las proteínas transportadoras de glucosa 1 y 4 (GLUT1 y GLUT4) en las células de la granulosa y tecaes con el correspondiente aumento en la captación de glucosa por el ovario<sup>(34,35)</sup>. Se ha propuesto que el efecto anterior asociado con un aumento en las concentraciones circulantes de leptina, inducido por el incremento en las concentraciones plasmáticas de insulina, trae como consecuencia una disminución en secreción de estradiol durante la fase folicular. De esa manera, disminuye la retroalimentación negativa sobre la secreción de la hormona foliculoestimulante (FSH), estimulándose la foliculogénesis e incrementándose eventualmente la tasa ovulatoria<sup>(2)</sup>. En el presente trabajo, la tasa de ovulación no se vio modificada con el consumo de trigo protegido con formaldehído y sebo saponificado, a pesar del aumento en la concentración sérica de insulina que se observó en el tratamiento correspondiente. En relación a ello, otros autores tampoco encontraron una relación positiva entre las concentraciones circulantes de insulina y la tasa ovulatoria en borregas de prolificidad promedio consumiendo dietas con diferentes cantidades de almidón no degradable en rumen<sup>(18)</sup>. Sin embargo, estos autores sí observaron una mayor tasa ovulatoria al incrementar en la dieta el almidón no degradable en rumen en animales que genéticamente presentaban un alto potencial ovulatorio. En este sentido, se ha observado que la capacidad ovulatoria en cabras criollas de composición genética similar a la de las incluidas en el presente experimento no es alta aún en condiciones de buena alimentación (tasa ovulatoria de 1.29 en animales consumiendo 115

wheat intake, even that blood insulin concentration increased in the corresponding treatment. Relative to this, other authors did not find a positive relationship between serum insulin concentration and the ovulation rate in ewes of average prolificacy fed with different amounts of non ruminal degradable starch<sup>(18)</sup>. However, these authors observed a greater ovulation rate when non ruminal degradable starch was increased in diets fed to animals that showed a genetically high ovulation potential. In this sense, it was observed that the ovulation capacity of Creole goats of similar genetic composition to those included in the present study is not high even in well fed conditions (1.29 ovulation rate in animals fed 115% of energy and protein theoretical requirements; Espinosa and Vera, unpublished data). On the other hand, it was suggested that body condition is an important determinant of the ovulation rate in small ruminants<sup>(1)</sup> and that in animals in good body condition, as was the case in the present study ( $3.0 \pm 0.1$ ), the positive effect of increased blood insulin and glucose concentrations on the ovulation rate can be canceled<sup>(1,34)</sup>. In line with this, it is possible that the absence of effect on ovulation rate in the treated wheat treatment, could be related to a limited ovulation potential in the experimental animals and/or due to a maximal expression of that rate owing to a good body condition. However, another possibility would be that changes due to treated wheat intake were not big enough to influence this variable. Relative to this, no changes were found in ewes' prolificacy injected with insulin for short periods prior to an induced ovulation, and the authors suggest that the forced hyper-insulinemia level could not have been the ideal to influence the ovarian function<sup>(36)</sup>.

Unlike what was found for the ovulation rate, the follicular development process was influenced in limited manner by treated wheat intake, and a greater number of <4 mm follicles was observed on the day of estrus (Table 4) and also a trend to present a higher number of total follicles on the day of estrus and of greater diameter on the second largest follicle on d 6 post estrus. Similarly, a greater number of small follicles was found in Merino ewes, after induction of increases in blood insulin

% de requerimientos teóricos de energía y proteína; Espinosa y Vera, datos no publicados). Por otra parte, se ha sugerido que la condición corporal es un componente importante en la determinación de la tasa ovulatoria en pequeños rumiantes<sup>(1)</sup> y que en animales con buena condición corporal, como es el caso de los del presente experimento ( $3.0 \pm 0.1$ ), puede anularse el efecto positivo de aumentar las concentraciones circulantes de glucosa e insulina sobre esta característica reproductiva<sup>(1,34)</sup>. De acuerdo a lo anterior, es posible que la ausencia de efecto sobre la tasa ovulatoria del tratamiento con trigo protegido, estuviera relacionada con el limitado potencial ovulatorio de los animales experimentales y que éste se estuviera expresando al máximo debido a su buena condición corporal. Sin embargo, otra posibilidad es que los cambios inducidos por el consumo de trigo protegido no fueran suficientes para influir sobre esta variable. En relación a esto último, no se encontraron cambios en la prolificidad de ovejas inyectadas con insulina por periodos cortos antes de una ovulación inducida, sugiriendo los autores de ese trabajo que el grado de hiperinsulinemia provocada pudiera no haber sido el adecuado para influir en la función ovárica<sup>(36)</sup>.

A diferencia de lo encontrado en la tasa ovulatoria, el proceso de desarrollo folicular fue influenciado en forma limitada por el consumo de trigo protegido con formaldehído y sebo saponificado, observándose un mayor número de folículos < 4 mm el día del estro (Cuadro 4) y una tendencia a presentar mayor número de folículos totales el día del estro y mayor diámetro del segundo folículo en tamaño el día 6 post-estro. En forma similar, se han encontrado mayor número de folículos pequeños en borregas Merino, después de inducir un aumento en las concentraciones circulantes de glucosa e insulina por manipulaciones de la dieta aunque sin influir en la tasa ovulatoria<sup>(34)</sup>. Asimismo, otros autores encontraron un incremento en el número de folículos pequeños al duplicar la ración de mantenimiento en bovinos, pero sin influir en los folículos de mayor tamaño<sup>(32,33)</sup>. También en bovinos, se ha observado un mayor diámetro de los folículos grandes por efecto de mejorar el consumo de energía<sup>(37)</sup> o por la administración exógena de insulina<sup>(38)</sup>.

and glucose by manipulating diets although the ovulation rate was not influenced<sup>(34)</sup>. In addition, other authors found increases in the number of small follicles in bovines when the intake was doubled<sup>(32,33)</sup>, or a greater size of large follicles due to improvements in energy intake<sup>(37)</sup> or when insulin was administered<sup>(38)</sup>.

In general, several studies have shown that an improvement of the energy status in ruminants, influences positively follicular development in the same way that was observed in the present study. Even short term intake (4 to 6 d) of high energy supplements prior to natural or induced luteolysis can influence the follicular development process in small ruminants<sup>(1,2)</sup>. Several metabolites (glucose, amino acids) and metabolic hormones (insulin, leptin, IGF-I, growth hormone), which influence either directly or indirectly the ovarian function, have been suggested as possible mediators of the aforementioned effect<sup>(2,39)</sup>. In short term supplementation with starch sources protected from ruminal degradation, the effect on follicular development could be mediated by diverse factors, involving an increase in portal glucose concentration with the corresponding stimulus to insulin secretion and/or to a greater response in insulin secretion when glucose entry is from intestinal absorption due to the “incretin” effect<sup>(29)</sup>. Relative to the role played by insulin on follicular development, in accordance with evidence provided by several sources, it has been suggested that that hormone is the axis of a regulatory system of the ovarian function<sup>(2,8,9)</sup>. In addition, it has also been suggested that insulin could interact with glucose at the follicular cells, and influence characteristics and dynamics of follicle populations as well as on certain conditions on the ovulation rate<sup>(2,5,34)</sup>.

In accordance with what has been mentioned before, it can be concluded that short term intake of wheat protected from ruminal degradation can influence, although in a limited fashion, follicular development process in Creole goats. That effect could have been related to a temporary increase in insulin secretion, associated to a greater glucose influx to the intestine due to protected wheat intake. However, other factors as the ovulation potential



En general, diversas investigaciones han demostrado que el favorecer el estado energético en los rumiantes, repercute en forma positiva en el desarrollo folicular en forma similar a lo observado en el presente experimento. Incluso, consumos por periodos cortos (4 a 6 días) de suplementos altos en energía iniciando poco antes de la luteólisis natural o inducida, son capaces de influir en el proceso de desarrollo folicular en pequeños rumiantes<sup>(1,2)</sup>. Como posibles mediadores del efecto mencionado, se han propuesto diversos metabolitos (glucosa, aminoácidos) y hormonas metabólicas (insulina, leptina, IGF-I, hormona del crecimiento), que directa o indirectamente influyen en la función ovárica<sup>(2,39)</sup>. En el caso de la suplementación por periodos cortos con fuentes de almidón protegidas de la degradación ruminal, el efecto sobre el desarrollo folicular pudo estar mediado a su vez por diferentes factores, involucrando el aumento en concentración portal de glucosa, con el correspondiente estímulo a la secreción de insulina y la mayor respuesta en secreción de insulina cuando el ingreso de glucosa es a partir de absorción intestinal por el efecto incretino<sup>(29)</sup>. En relación al papel que juega insulina sobre el proceso de desarrollo folicular, de acuerdo a diversas evidencias se ha propuesto que dicha hormona representa el eje de un sistema de regulación de la función ovárica<sup>(2,8,9)</sup>. Asimismo, también se ha sugerido que la insulina podría interactuar con la glucosa disponible a nivel de las células foliculares, para influir en las características y dinámica de las poblaciones foliculares así como en ciertas condiciones sobre la tasa de ovulación<sup>(2,5,34)</sup>.

De acuerdo a la discusión anterior, se puede concluir que el consumo por periodos cortos de trigo protegido contra la degradación ruminal es capaz de influenciar aunque de una forma limitada el proceso de desarrollo folicular en cabras de genotipo criollo. Dicho efecto, pudo estar relacionado con un incremento temporal en la secreción de insulina, asociado a mayor ingreso de glucosa al intestino por consumo del trigo protegido. Sin embargo, factores como el potencial ovulatorio del genotipo evaluado, la condición corporal de los animales experimentales y la duración e intensidad del incremento inducido en la secreción de insulina,

of the genotype being studied, body condition of experimental individuals and the length and strength of the increase in insulin secretion could constitute a deciding factor of the effect in follicular development not pointing towards a higher ovulation rate.

Findings in the present study indicate that intake of starch sources protected from ruminal degradation can be an adequate tool for selectively influencing endogenous insulin secretion, and potentially, physiologic processes linked to this hormone in domestic ruminants.

*End of english version*

---

podieron ser determinantes para que el efecto en el desarrollo folicular no se reflejara en una mejor tasa ovulatoria.

Los hallazgos del presente trabajo indican que la aportación y consumo de fuentes de almidón protegidas de la degradación ruminal, representa una herramienta para influir selectivamente sobre la secreción endógena de insulina y potencialmente sobre procesos fisiológico ligados a esta hormona en los rumiantes domésticos.

## LITERATURA CITADA

1. Downing JA, Scaramuzzi RJ. Nutrient effects on ovulation rate, ovarian function and the secretion of gonadotrophin and metabolic hormones in sheep. *J Reprod Fertil* 1991;43(Suppl):209-227.
2. Scaramuzzi RJ, Campbell BK, Downing JA, Kendall NR, Khalid M, Muñoz-Gutiérrez M, Somchit A. A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. *Reprod Nutr Dev* 2006;46:339-354.
3. Downing JA, Joss J, Scaramuzzi RJ. Ovulation rate and the concentrations of gonadotrophins and metabolic hormones in ewes infused with glucose during the late luteal phase of the oestrous cycle. *J Endocrinol* 1995;146:403-410.
4. Downing JA, Joss J, Scaramuzzi RJ. A mixture of the branched chain amino acids leucine, isoleucine and valine increases ovulation rate in ewes when infused during the late luteal phase of the oestrous cycle: an effect that may be mediated by insulin. *J Endocrinol* 1995;145:315-323.



5. Downing JA, Joss J, Scaramuzzi RJ. The effect of a direct arterial infusion of insulin and glucose on the ovarian secretion rates of androstenedione and estradiol in ewes with an autotransplanted ovary. *J Endocrinol* 1999;163:531-541.
6. Hileman SM, Schillo KK, Hall JB. Effects of acute intracerebroventricular administration of insulin on serum concentrations of luteinizing hormone, insulin, and glucose in ovariectomized lambs during restricted and ad libitum feed intake. *Biol Reprod* 1993;48:117-124.
7. Buggs C, Weinberg F, Kim E, Wolfe A, Radovick S, Wondisford F. Insulin augments GnRH-stimulated LH $\alpha$  gene expression by Egr-1. *Mol Cell Endocrinol* 2006;249:99-106.
8. Spicer LJ, Echternkamp SE. The ovarian insulin and insulin-like growth factor system with an emphasis on domestic animals. *Domest Anim Endocrinol* 1995;12:223-245.
9. Poretsky L, Cataldo NA, Rosenwaks Z, Giudice LC. The insulin-related ovarian regulatory system in health and disease. *Endocr Rev* 1999;20(4):535-582.
10. Foster DL, Nagatani S. Physiological perspectives on leptin as a regulator of reproduction: role in timing puberty. *Biol Reprod* 1999;60:205-215.
11. Herrera-Saldana RE, Huber JT, Poore MH. Dry matter, crude protein and starch degradability of five cereal grains. *J Dairy Sci* 1990;73:2386-2393.
12. Weekes TEC. Hormonal control of glucose metabolism. Proc VII International Symposium on Ruminant Physiology: Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants. USA 1991:183-200.
13. Huntington GB. Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. *J Anim Sci* 1997;75:852-867.
14. Fluharty FL, Loerch SC. Chemical treatment of ground corn to limit ruminal starch digestion. *Can J Anim Sci* 1989;69:173-180.
15. Ramírez SM. Efecto del tratamiento de granos de cereal con sebo saponificado con sales de calcio y formaldehído sobre la degradación ruminal, el flujo de almidón a duodeno y la concentración de glucosa sanguínea en ovinos [tesis maestría]. México, DF: Universidad Nacional Autónoma de México; 2003.
16. INEGI. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. Síntesis Geográfica: Nomenclátor y Anexo Cartográfico del Estado de Querétaro. México, 1987.
17. Santucci PM, Branca A, Napoleone M, Bouche R, Aumont G, Poisot F, Alexandre G. Body condition scoring of goats in extensive conditions. In: *Goat nutrition*. 1991:240-257.
18. Landau S, Bor A, Leibovich H, Zoref Z, Nitsan Z, Madar Z. The effect of ruminal starch degradability in the diet of Booroola crossbred ewes on induced ovulation rate and prolificacy. *Anim Reprod Sci* 1995;38:97-108.
19. NRC. National Research Council. Nutrients requirements of goats. Washington, DC, USA: National Academy Press; 1981.
20. SAS. SAS/STAT User's Guide, Version 6, Fourth Edition. Cary NC, USA: SAS Inst. Inc. 1989.
21. Oke BO, Loerch SC, Redman DR. Effect of dietary level and formaldehyde treatment of corn on nutrient digestion and metabolism in sheep. *Can J Anim Sci* 1991;71:1197-1205.
22. Walker JA, Harmon DL. Influence of ruminal or abomasal starch hydrolysate infusion on pancreatic exocrine secretion and blood glucose and insulin concentrations in steers. *J Anim Sci* 1995;73:3766-3774.
23. Susin I, Loerch SC, McClure KE, Day ML. Effects of limit feeding a high-grain diet on puberty and reproductive performance of ewes. *J Anim Sci* 1995;73:3206-3215.
24. Susin I, Loerch SC, McClure KE. Effects of feeding a high-grain diet at a restricted intake on lactation performance and rebreeding of ewes. *J Anim Sci* 1995;73:3199-3205.
25. Huntington GB, Reynolds PJ. Net absorption of glucose, l-lactate, volatile fatty acids and nitrogenous compounds by bovine given abomasal infusions of starch or glucose. *J Dairy Sci* 1986;69:2428-2436.
26. Kreikemeier KK, Harmon DL, Brandt RT, Avery TB, Johnson DE. Small intestinal starch digestion in steers: effect of various levels of abomasal glucose, corn starch and corn dextrin infusion on small intestinal disappearance and net glucose absorption. *J Anim Sci* 1991;69:328-338.
27. McAllister TA, Rode LM, Cheng KJ, Buchanan-Smith JG. Effect of formaldehyde-treated barley or escape protein on the ruminal environment and digestion in steers. *Can J Anim Sci* 1992;72:317-328.
28. Erickson PS, Murphy MR, Clark JH. Supplementation of dairy cow diets with calcium salts of long-chain fatty acids and nicotinic acid in early lactation. *J Dairy Sci* 1992;75:1078-1089.
29. Ritzel RA, Michael DJ, Butler PC. Insulin secretion. In: Henry HL, Norman AW, editors. *Encyclopedia of hormones*. California, USA: Academic Press; 2003:384-390.
30. Fujita T, Kajita M, Sano H, Shiga A. Effects of supplemental energy as starch on tissue responsiveness and sensitivity to insulin in goats. *Anim Sci J* 2000;4:386-392.
31. Miller DW, Blanche D, Martin GB. The role of intracerebral insulin in the effect of nutrition on gonadotrophin secretion in mature male sheep. *J Endocrinol* 1995;147:321-329.
32. Gutierrez CG, Oldham J, Branley AT, Gong JG, Campbell BK, Webb R. The recruitment of ovarian follicles is enhanced by increased dietary intake in heifers. *J Anim Sci* 1997;75:1876-1884.
33. Armstrong DG, Gong JG, Gardner JO, Baxter G, Hogg CO, Webb R. Steroidogenesis in bovine granulosa cells: the effect of short-term changes in dietary intake. *Reproduction* 2002;123:371-378.
34. Williams SA, Blache D, Martin GB, Foot R, Blackberry MA, Scaramuzzi RJ. Effect of nutritional supplementation on quantities of glucose transporters 1 and 4 in sheep granulosa and theca cells. *Reproduction* 2001;122:947-956.
35. Scaramuzzi RJ, Campbell BK, Souza CJH, Baird DT. Glucose uptake and lactate production by the autotransplanted ovary during the luteal and follicular phases of the oestrous cycle. In: *Proceedings of the 6th International Symposium on reproduction in Domestic Ruminants 2002*, Abstract A70.
36. Kirwood RN, Thacker PA, Korchinski RS, González A, Laarveld B. Effect of pre-mating injection of insulin on fertility and prolificacy of ewes. *Can J Anim Sci* 1991;71:241-244.
37. Grimard B, Humblot P, Ponter AA, Mialot JP, Sauvant D, Thibier M. Influence of postpartum energy restriction on energy status, plasma LH and oestradiol secretion and follicular development in suckled beef cows. *J Reprod Fert* 1995(104):173-179.
38. Simpson RB, Chase Jr. CC, Spicer LJ, Vernon RK, Hammond AC, Rae DO. Effect of exogenous insulin on plasma and follicular insulin-like growth factor I, insulin-like growth factor binding protein activity, follicular oestradiol and progesterone, and follicular growth in superovulated Angus and Brahman cows. *J Reprod Fert* 1994;102:483-492.
39. Robinson JJ. Nutrition and reproduction. *Anim Reprod Sci* 1996;42:25-34.