

EFECTO DE LA RESTRICCIÓN PROTEICA EN VACAS MULTÍPARAS DURANTE LA GESTACIÓN MEDIA Y TARDÍA EN EL CRECIMIENTO Y FERTILIDAD DE LA PROGENIE FEMENINA.

S. López Valiente¹, S. Maresca¹, A.M. Rodríguez¹, N.M. Long², G. Quintans³, R.A. Palladino⁴

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue estudiar los efectos de dos niveles de proteína cruda (PC) suministrados durante la gestación tardía sobre el crecimiento postdestete de las vaquillonas y su desempeño reproductivo. A los 121 días preparto, 68 vacas Angus multíparas, fueron estratificadas por peso vivo y fecha probable de parto, y asignadas aleatoriamente a dos tratamientos: dieta baja en proteínas (LP, 6% CP) o alta en proteínas (HP, 12% CP); en 12 corrales por grupo de tratamiento. Luego del parto todas las vacas se manejaron como un solo grupo hasta el destete. Después del destete, se separaron las terneras hembras y fueron manejadas en pasturas como un solo grupo. Las vaquillonas HP fueron más pesadas a la pubertad ($P = 0,01$) y en la determinación de la preñez ($P = 0,05$) que las LP. El área del músculo *Longissimus* fue mayor a los 20 meses de edad en HP en comparación con las vaquillonas LP ($P = 0,01$). La concentración sérica de IGF-1 fue mayor en las vaquillonas HP que en LP ($P = 0,05$). No se encontró efecto de la nutrición materna sobre edad a la pubertad de la descendencia ($P = 0,98$), ni en porcentaje de preñez final ($P = 0,28$). La suplementación proteica durante la gestación tardía no tuvo efecto en el desempeño reproductivo de la descendencia pero sí tuvo impacto sobre la ganancia de peso vivo. El suministro de dietas con baja cantidad de proteína durante el crecimiento fetal puede afectar el desarrollo posterior de la descendencia femenina.

Palabras clave: programación fetal, pubertad, crecimiento

ABSTRACT

The objective of the present work was to investigate the effects of two levels of crude protein (CP) provided to mature dams during late gestation on subsequent heifer's growth postweaning and reproductive performance. At 121 d prepartum, 68 multiparous Angus cows were blocked by BW and expected calving date and randomly assigned to low protein (LP, 6% CP) or high protein (HP, 12% CP) at 12 pens per treatment. Following calving, all cow/calf pairs were housed together until weaning, then female progeny were removed and maintained on pasture as a single group. At puberty ($P = 0.01$) and pregnancy determination ($P = 0.05$) the HP heifers were heavier than LP heifers. The LM area was greater at 20 mo of age in HP compared to LP heifers ($P = 0.01$). Serum IGF-1 concentration was greater in HP heifers compared to LP heifers ($P = 0.05$). No dam nutrition effects were found on offspring age at puberty ($P = 0.98$), final pregnancy rate ($P = 0.28$). Protein supplementation during late gestation does not affect reproductive performance of the offspring heifers but did impact their BW evolution. The use of diet with low amount of protein which the female fetus is exposed *in utero* can affect her subsequent development.

Keywords: fetal programming, puberty, growth.

¹ Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Estación Experimental Cuenca del Salado, Argentina.

² Departamento de Ciencias Animales y Veterinarias, Universidad de Clemson, Carolina del Sur, Estados Unidos de América.

³ Programa Nacional de Investigación en Producción de Carne y Lana, INIA Treinta y Tres, Uruguay.

⁴ IIPAS-CONICET, Universidad Nacional de Lomas de Zamora, Buenos Aires, Argentina.

INTRODUCCIÓN

Los rodeos de cría en Argentina se manejan bajo condiciones de pastoreo extensivo. En invierno, la calidad de los forrajes es baja y, por lo tanto, las vacas experimentan períodos de desnutrición que coinciden con la segunda mitad de la gestación. La restricción nutricional durante la gestación tardía podría afectar el crecimiento posnatal y la fisiología (Barker *et al.*, 1993). En el ganado vacuno, también se ha observado que la nutrición fetal influye en el tamaño y el crecimiento de la fibra muscular, la adipogénesis (Long *et al.*, 2012; Du *et al.* 2013) y la calidad de la carne (Larson *et al.*, 2009; Shoup *et al.*, 2015). Poco se sabe sobre los impactos en el rendimiento reproductivo de la descendencia femenina o cómo podría verse afectada la función endócrina. Estudios previos indican que la suplementación con proteínas durante el último tercio de la gestación aumentó el peso vivo y la fertilidad de las vaquillonas. Funston *et al.* (2010), suplementaron vaquillonas con proteínas durante la gestación tardía y concluyeron que la nutrición prenatal tendía a afectar la edad en la pubertad de las hijas. Investigaciones previas de Martin *et al.* (2007) indican que la suplementación con proteínas durante el último tercio de la gestación dio como resultado un aumento del peso corporal en el diagnóstico previo a la gestación y la preñez, así como una mayor tasa de preñez de hijas de madres suplementadas en comparación con hijas de madres no suplementadas. Sin embargo, no está claro si las respuestas observadas en los experimentos anteriores se debieron específicamente a la proteína suplementada o a un aumento general en la ingesta total de energía asociada con un aumento de la suplementación de proteínas disponibles en el rumen. Por el contrario, Shoup *et al.* (2017) concluyeron que la suplementación de vacas durante la gestación tardía con subproductos de destilados de granos de maíz y cáscara de soja no afectó el crecimiento y el rendimiento reproductivo de la progenie femenina posterior.

En el presente estudio se determinaron los efectos de la suplementación con proteínas

durante la gestación en la etapa media y tardía sobre la ganancia de peso corporal, la reproducción, la concentración sérica de insulina e IGF-1 y la glucosa en sangre total en la descendencia femenina.

MATERIALES Y MÉTODOS

Todos los procedimientos con animales se realizaron de conformidad con los procedimientos aprobados por CIUCAE INTA-CERBAS n°87, Buenos Aires, Argentina.

Los procedimientos experimentales se describen en López Valiente *et al.* (2018). Brevemente, las vacas Angus multíparas de antecedentes genéticos similares fueron inseminadas usando semen de un solo padre mediante un protocolo de inseminación artificial a tiempo fijo, luego las vacas fueron expuestas a un toro durante 15 días. Se utilizó un diseño de bloques completos al azar. El tratamiento inició a los 121 ± 14 días de gestación, las vacas se estratificaron por peso vivo y fecha de parto prevista y se asignaron en 24 corrales con una dieta baja en proteínas (LP; 6% CP) o alta en proteínas (HP; 12% CP) a 12 corrales por tratamiento. Las vacas fueron alimentadas para cumplir con el 100% de los requerimientos de NEm en ambos tratamientos y proporcionar el 64% y el 121% de los requerimientos de CP para LP y HP, respectivamente. La dieta LP consistió en 98,5% de ensilaje de maíz y 1,5% de premezcla mineral y la dieta HP consistió en 87,5% de ensilaje de maíz, 10% de pellet de girasol, 1% de urea y 1,5% de mineral premezclado. A todas las vacas se les permitió parir naturalmente y después del parto, el par vaca-ternero se manejó como un grupo en verdes de invierno y pasturas hasta el destete (221 días). Después del destete las vaquillonas se separaron de sus hermanos y se manejaron como un grupo de acuerdo a las prácticas agrícolas comerciales del Instituto Nacional de Tecnología Agrícola (INTA).

Los tratamientos se limitaron a la vaca desde la gestación media a tardía y no se aplicaron tratamientos adicionales a los terneros después del nacimiento. Después del destete,

las vaquillonas LP ($n = 15$) y HP ($n = 13$) se manejaron como un grupo hasta el final de la prueba. Las vaquillonas consumieron pasturas nativas y verdes de invierno durante todo el estudio.

Todas las vaquillonas se pesaron cada 3,2 meses ($\pm 0,8$) hasta los 20 meses de edad (correspondiente al diagnóstico de preñez). Las mediciones de ultrasonido del espesor de la grasa de la costilla 12 y el área del músculo *Longissimus* (LM) se tomaron entre la costilla 12 y la 13 del lado derecho de las vaquillonas, cada 5 meses desde los 10 meses de edad hasta el diagnóstico de preñez utilizando un Aquila pro, Esaote Europe B.V. Maastricht, NL; Sonda de 3,5 MHz.

Se recogieron muestras de sangre vía yugular en vaquillonas al mismo tiempo que se registraron los pesos vivos para determinar las concentraciones de glucosa en sangre, insulina sérica e IGF-1. Las concentraciones de glucosa se midieron usando un glucómetro de mano (Abbott®, Reino Unido) como se describió previamente por Wittrock *et al.*, (2013). Las concentraciones séricas de IGF-1 se determinaron mediante un radioinmunoensayo (RIA) realizado después de la extracción con etanol ácido como se describe por Lacau-Mengido *et al.* (2000).

Para determinar el tiempo de inicio de la pubertad en las vaquillonas, se recolectó sangre semanalmente desde los 13,2 hasta los 16,5 meses de edad con el fin de determinar las concentraciones de progesterona en suero. Se consideró que el inicio de la actividad lútea ovárica se produjo en la primera de dos fechas cuando la concentración de progesterona fue ≥ 1 ng / ml en dos muestreos consecutivos. Con el fin de determinar la curva de concentración de progesterona durante un ciclo estral, se sincronizaron 6 vaquillonas LP y 6 HP seleccionadas al azar usando un dispositivo de liberación de fármaco interno controlado (Cronipres®, Biogenesis-Bago, Argentina) durante 7 días, luego se extrajo el dispositivo y se administraron por vía intramuscular 500 μ g de cloporostenol (Ciclase DL®, Syntex, Argentina) y 1 mg de benzoa-

to de estradiol (Benzoato de estradiol Syntex®, Argentina). Se recogieron muestras de sangre a los días 0 y 7 (día de colocación y extracción del dispositivo) y cada dos días hasta el día 35. La progesterona sérica se determinó mediante inmunoensayo enzimático quimioluminiscente (IMMULITE @ 2000). A los 16,5 meses de edad, las vaquillonas se expusieron a un toro durante 60 días y el diagnóstico de preñez se realizó mediante ecografía transrectal 45 días después de la finalización del período de reproducción.

El diseño experimental fue un diseño de bloques completos al azar, donde las vacas originales (madres de las vaquillonas) fueron bloqueadas de acuerdo al peso vivo y la fecha esperable de parto. Para todos los datos, el corral se consideró la unidad experimental. Todos los datos se analizaron utilizando los procedimientos lineales mixtos de SAS (SAS Institute, Cary, NC, EE. UU.), donde el tratamiento y el bloqueo fueron el efecto fijo, mientras que el corral anidado al bloque fue el efecto aleatorio. Los pesos vivos, el área de ojo de bife, grasa dorsal, las concentraciones de hormonas y glucosa se analizaron como un análisis de medidas repetidas utilizando el procedimiento MIXED de SAS con tratamiento, día y su interacción en el modelo. La tasa de preñez final se analizó mediante la prueba de Fisher. En todos los casos, se presentan los mínimos cuadrados y el MSE; las diferencias se consideran significativas a $P \leq 0,05$, con una tendencia a $P \leq 0,10$.

RESULTADOS

La evolución del peso vivo de las vaquillonas desde el destete hasta los 20 meses se presenta en la figura 1. El nivel de proteína preparto de la madre no afectó el peso vivo de las vaquillonas ($P = 0,16$) pero las hijas de las vacas HP tuvieron una ganancia de peso vivo mayor que las vaquillonas LP ($0,45 \pm 0,02$ vs. $0,35 \pm 0,02$ kg / d; $P = 0,03$; Figura 1). Las vaquillonas hijas de las vacas HP tuvieron igual altura a la grupa que las hijas de las vacas LP durante toda la recría ($115,05 \pm 1,03$ vs. $115,33 \pm 1,22$ cm; $P=0,88$). El área

de ojo de bife a los 20 meses de edad fue mayor en vaquillonas hijas de vacas HP en comparación con las vaquillonas LP ($44,3 \pm 1,5$ vs. $49,9 \pm 1,7$ cm²; $P=0,01$). Sin embar-

go, el nivel de proteína alimentada durante la gestación no afectó el grosor de la grasa dorsal de las hijas ($P = 0,75$) hasta los 20 meses de edad.

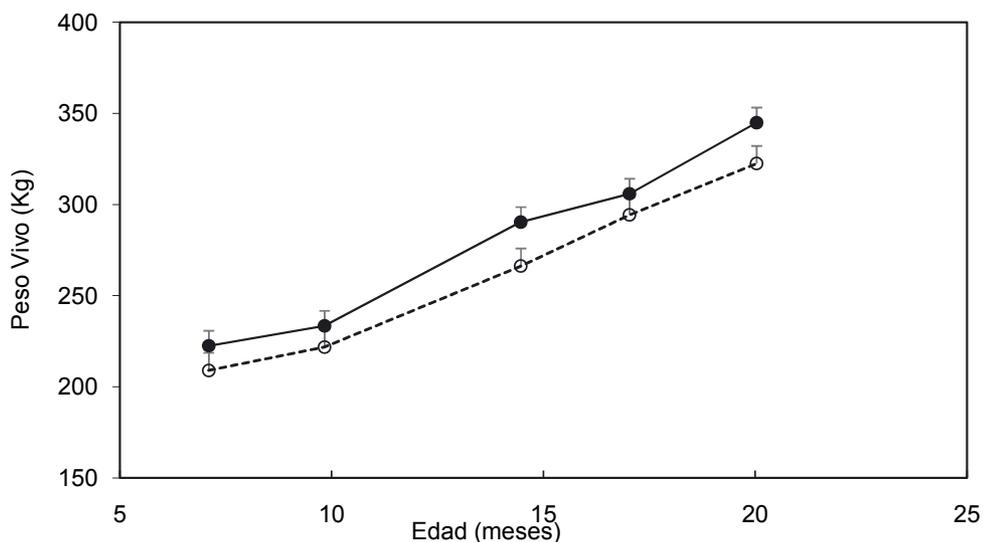


Figura 1. Evolución del peso vivo (medias \pm SEM) de las vaquillonas hijas de madres no suplementadas (6% CP, línea discontinua) o suplementadas (12% CP, línea continua) con proteína durante la gestación tardía (tratamiento, $P = 0,16$; tiempo, $P < 0,001$; tratamiento x tiempo, $P = 0,44$).

Las concentraciones séricas de IGF-1 fueron mayores en las vaquillonas HP en comparación con las vaquillonas LP ($P = 0,05$), mientras que las concentraciones de insulina sérica y glucosa en sangre no fueron influenciadas por el nivel de proteína materna en ningún momento de muestreo ($P > 0,19$).

El efecto del tratamiento nutricional de la vaca durante la gestación media a tardía sobre el rendimiento reproductivo de las va-

quillonas se presenta en el cuadro 1. La nutrición preparto de la vaca no afectó la edad a la pubertad ($P = 0,98$) y la preñez al finalizar el servicio ($P = 0,28$), pero las vaquillonas LP fueron 30,8 kg más livianas ($P = 0,01$) que las vaquillonas HP a la pubertad. Así mismo, el nivel de nutrición de la madre no tuvo efecto ($P > 0,11$) en las curvas de progesterona recolectadas durante un ciclo estral en las 6 vaquillonas muestreadas por tratamiento.

Cuadro 1. Efecto del nivel de proteína en la dieta durante el la gestación tardía en la respuesta reproductiva de las hijas.

Ítem	Tratamientos ¹		Valor P
	LP	HP	
Edad a la pubertad (días)	435 ± 10	435 ± 10	0,98
Peso vivo a la pubertad (kg)	278 ± 16	309 ± 16	0,01
Preñez (%)	73,3 ± 11	53,8 ± 11	0,28
Progesterona (ng/mL)	4,41 ± 0,37	3,37 ± 0,37	0,23
Días del ciclo (días)	11,2 ± 0,5	10,6 ± 0,5	0,35
Pico de progesterona (días)	7,30 ± 0,70	6,01 ± 0,69	0,11
Concentración máxima de progesterona (ng/mL)	8,00 ± 1,18	9,24 ± 1,16	0,48
Área bajo la curva de progesterona	52,3 ± 4,4	41,2 ± 4,2	0,21

¹LP: Baja proteína (6% PC); HP: Alta proteína (12% PC)

DISCUSIÓN

Las vaquillonas HP tuvieron una mayor ganancia de peso vivo, sin embargo el peso vivo, la altura de la grupa y el grosor de la grasa de la costilla 12 fueron similares entre los tratamientos. En otras investigaciones no se observaron diferencias en ganancias de peso diarias en vaquillonas (Martin *et al.*, 2007; Maresca *et al.*, 2018) o novillos (Larson *et al.*, 2009; Funston *et al.*, 2010; Maresca *et al.*, 2018) nacidos de vacas suplementadas con proteína durante gestación tardía. Las vaquillonas HP alcanzaron la pubertad a un peso vivo mayor en comparación con las vaquillonas LP ($P = 0,01$). Las vaquillonas hijas de las vacas HP tuvieron mayores concentraciones de IGF-1 que las vaquillonas nacidas de las vacas LP ($P = 0,05$) hasta los 20 meses de edad. El mayor peso vivo a la pubertad de las vaquillonas HP en comparación con las LP podría explicarse por un control de crecimiento endócrino postnatal diferente, lo que se vio reflejado en mayores concentraciones séricas de IGF-1 en vaquillonas HP en comparación con las LP durante el estudio.

La nutrición proteica de las vacas preñadas también podría influir en el rendimiento reproductivo de la progenie de vaquillonas. Martin *et al.* (2007) informaron que el porcentaje de vaquillonas que parieron en los primeros

21 días de la temporada de parto fue mayor para las vaquillonas hijas de vacas suplementadas con proteínas en comparación con las no suplementadas. Un hallazgo similar fue reportado por Cushman *et al.* (2014) al limitar la disponibilidad de nutrientes durante la gestación tardía. Martin *et al.* (2007) informaron una tasa general de preñez del 93% frente al 80% para las vaquillonas suplementadas o no suplementadas con proteínas, respectivamente. Sin embargo, en este estudio el nivel de proteína no afectó la tasa final de preñez. Un resultado similar fue reportado por Warner *et al.* (2011) en el que no se observaron diferencias en las tasas de preñez de las vaquillonas hijas de vacas que pastoreaban residuos de maíz y que recibían un suplemento proteico en comparación con las vacas que pastoreaban residuos de maíz y que no recibían ningún suplemento durante la gestación tardía. Estos resultados concuerdan con los datos presentados por Funston *et al.* (2010) donde el porcentaje de preñez de las vaquillonas hijas de vacas suplementadas con proteínas no se vieron afectadas por el tratamiento. Cushman *et al.* (2014) no encontraron diferencias en el porcentaje de preñez de las hijas cuando sus madres fueron asignadas a una ingesta de nutrientes baja (75% de mantenimiento), moderada (100% de mantenimiento) o alta (125% de mantenimiento) durante el segundo o tercer trimestre. Algunos autores encontraron que

la desnutrición durante la gestación afecta la edad en la pubertad (Guzman, 2005; Funston *et al.*, 2010). Sin embargo, estos resultados no están de acuerdo con Nepomuceno *et al.* (2017) y Martin *et al.* (2007). En el experimento actual, la suplementación con proteínas a la vaca no afectó la edad a la pubertad o la fertilidad de la descendencia. Una posible razón de la falta de diferencias es que se utilizaron vacas multíparas, las cuales son menos susceptibles a la restricción de nutrientes en comparación con las vacas primíparas (Long *et al.*, 2009). Podría afectar a dichos resultados el pequeño tamaño de la muestra y, por lo tanto, la potencia reducida junto con las complejas influencias en la reproducción en general probablemente limitó la detección de la diferencia. La falta de respuesta de las características reproductivas podría deberse al hecho de que estas variables están comúnmente influenciadas por la nutrición en otras etapas de la gestación o por una combinación de restricciones de energía y proteína.

CONCLUSIÓN

En conclusión, la suplementación proteica de las vacas durante la gestación tardía resultó en una mayor ganancia de peso diaria, área de ojo de bife y mayores concentraciones de IGF-1 en suero en la progenie. Las vaquillonas HP habían alterado el crecimiento y la composición corporal, pero la edad a la pubertad y el rendimiento reproductivo durante la primera temporada de reproducción fueron similares.

BILIOGRAFÍA

Barker, D.J.; Martyn, C.N.; Osmond, C.; Hales, C.N.; Fall, C.H. 1993. Growth *in utero* and serum cholesterol concentrations in adult life. *British Medical Journal*, 307: 1524–1527. <https://doi.org/10.1136/bmj.307.6918.1524>

Cushman, R.A.; Mcneel, A.K.; Freetly, H.C. 2014. The impact of cow nutrient status during the second and third trimesters on age at puberty, antral follicle count and fertility. *Livestock Science*, 162: 252–258. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2014.01.033>

Du, M.; Huang, Y.; Das, A.K.; Yang, Q.; Duarte, M.S.; Dodson, M.V.; Zhu, M.J. 2013. *Meat Science* and muscle Biology Symposium: Manipulating mesenchymal progenitor cell differentiation to optimize performance and carcass value of beef cattle. *Journal of Animal Science*, 91(3): 1419–1427. <https://doi.org/10.2527/jas.2012-5670>.

Funston, R.N.; Martin, J.L.; Adams, D.C.; Larson, D.M. 2010. Winter grazing system and supplementation of beef cows during late gestation influence heifer progeny. *Journal of Animal Science*, 88(12): 4094–4101. <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3039>

Guzmán, C.; Cabrera, R.; Cárdenas, M.; Larrea, F.; Nathanielsz, P.W.; Zambrano, E. 2006. Protein restriction during fetal and neonatal development in the rat alters reproductive function and accelerates reproductive ageing in female progeny. *The Journal of physiology*, 572(1): 97–108. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2005.103903>

Lacau-Mengido, I.M.; Mejía, M.E.; Díaz-Torga, G.S.; Gonzalez Iglesias, A.; Formía, N.; Libertun, C.; Becú-Villalobos, D. 2000. Endocrine studies in ivermectin-treated heifers from birth to puberty. *Journal of Animal Science*, 78(4): 817–824. <https://doi.org/10.2527/2000.784817x>

- Larson, M.D.; Martin, J.L.; Adams, D.C.; Funston, R.N.** 2009. Winter grazing system and supplementation during late gestation influence performance of beef cows and steer progeny. *Journal of Animal Science*, 87(3): 1147–1155.
<https://doi.org/10.2527/jas.2008-1323>
- Long, N.M.; Tousley, C.B.; Underwood, K.R.; Paisley, S.I.; Means, W.J.; Hess, B.W.; Du, M.; Ford, S.P.** 2012. Effects of early- to mid-gestational undernutrition with or without protein supplementation on offspring growth, carcass characteristics, and adipocyte size in beef cattle. *Journal of Animal Science*, 90(1): 197–206.
<https://doi.org/10.2527/jas.2011-4237>
- Long, N.M.; Vonnahme, K.A.; Hess, B.W.; Nathanielsz, P.W.; Ford, S.P.** 2009. Effects of early gestational undernutrition on fetal growth, organ development, and placentomal composition in the bovine. *Journal of Animal Science*, 87: 1950–1959.
<https://doi.org/10.2527/jas.2008-1672>
- López Valiente, S.; Maresca, S.; Rodríguez, A.M.; Palladino, R.A.; Lacau-Mengido, I.M.; Long, N.M.; Quintans, G.** 2018. Effect of protein restriction of Angus cows during late gestation: Subsequent reproductive performance and milk yield. *The Professional Animal Scientists*, 34(3): 261–268. <https://doi.org/10.15232/pas.2017-01701>
- Maresca, S.; López Valiente, S.; Rodríguez, A.M.; Long, N.M.; Pavan, E.; Quintans, G.** 2018. Effect of protein restriction of bovine dams during late gestation on offspring postnatal growth, glucose-insulin metabolism and IGF-1 concentration. *Livestock Science*, 212: 120–126.
<https://doi.org/10.1016/j.livsci.2018.04.009>
- Martin, J.L.; Vonnahme, K.A.; Adams, D.C.; Lardy, G.P.; Funston, R.N.** 2007. Effects of dam nutrition on growth and reproductive performance of heifer calves. *Journal of Animal Science*, 85(3): 841–847.
<https://doi.org/10.2527/jas.2006-337>
- Nepomuceno, D.D.; Pires, A.V.; Ferraz, M.V.C.; Biehl, M.V.; Gonçalves, J.R.S.; Moreira, E.M.; Day, M.L.** 2017. Effect of prepartum dam supplementation, creep-feeding and post-weaning feedlot on age at puberty in Nellore heifers. *Livestock Science*, 195: 58–62.
<https://doi.org/10.1016/j.livsci.2016.11.008>
- Shoup, L.M.; Ireland, F.A.; Shike, D.W.** 2017. Effects of dam prepartum supplement level on performance and *Reproduction of heifer progeny* *Reproduction of heifer progeny*. *Italian Journal of Animal Science*, 16(1): 1954–1961.
<https://doi.org/10.1080/1828051X.2016.1269301>
- Shoup, L. M., Wilson, T. B., González-Peña, D., Ireland, F. A., Rodríguez-Zas, S., Felix, T. L.; Shike, D.W.** 2015. Beef cow prepartum supplement level and age at weaning: II. Effects of developmental programming on performance and carcass composition of steer progeny. *Journal of Animal Science*, 93(10): 4936–4947.
<https://doi.org/10.2527/jas.2014-8565>
- Warner, J.M.; Martin, J.L.; Hall, Z.C.; Kovarik, L.M.; Hanford, K.J.; Rasby, R.J.** 2011. The effects of supplementing beef cows grazing cornstalk residue with a dried distillers grain based cube on cow and calf performance. *Professional Animal Scientists*, 27(6): 540–546.
[https://doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)30536-2](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30536-2)
- Wittrock, J.A.M.; Duffield, T.F.; LeBlanc, S.J.** 2013. Short communication: Validation of a point-of-care glucometer for use in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 96(7): 4514–4518. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6533>