

AMINOACIDOS EXCITADORES, MACHOS CAPRINOS, CIRCUNFERENCIA ESCROTAL, FOTOPERIODOS CRECIENTES Y EL PATRÓN DE SECRECIÓN DE INUSLINA

EXCITATORY AMINOACIDS, MALE GOATS, SCROTAL CIRUMFERENCE, INCREASED PHOTOPERIOD AND THE RELEASE PATTERN OF INSULIN

J. Gonzalez Maldonado¹, F.G. Véliz Deras², M.A. De Santiago Miramontes²,
R. Rivas Muñoz³, E. Carrillo³, M.G. Calderón Leyva¹, J. Abad Zavaleta⁴,
C. A. Meza Herrera^{1,*}

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

² Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna. México.

³ Instituto Tecnológico de Torreón. México.

⁴ Universidad del Papaloapan, Campus Loma Bonita, Oaxaca, México

*Autor de correspondencia: meza2020@hotmail.com

RESUMEN. Se evaluó la aplicación de aminoácidos excitadores (AAE; L-glutamato), sobre la actividad reproductiva en machos caprinos considerando las variables circunferencia escrotal (CE), incremento en la circunferencia escrotal (INCRE), niveles serios de insulina (NSI), condición corporal (CC) y peso vivo (PV) durante fotoperiodos crecientes. El experimento se realizó en la Unidad de Experimentación Caprina Sur, (URUZA-UACH, 25° LN, 103° LO, 1,117 msnm), durante Marzo y Mayo, 2008; con un régimen de luz natural y fotoperiodo creciente. Se utilizaron machos Alpinos (n=6, 24 meses de edad, PV inicial 49.8 ±0.33 kg), recibieron *ad libitum* una dieta a base de heno de alfalfa (14 %PC; 1.14Mcal kg⁻¹ ENm) y ensilado de maíz (8.1 %PC; 1.62 Mcal kg⁻¹ ENm), cubriendo el 100% de sus requerimientos nutricionales. Los machos fueron designados a uno de dos tratamientos: 1) Grupo de L-glutamato (GLU, n=3; PV = 50.3±0.33 Kg., CC = 3.25±0.11 unidades) y 2) Grupo control, (CONT, n=3; PV = 49.3±0.33 kg, 3.16±0.11 unidades). Mientras que el grupo GLU recibió infusiones endovenosas de 7 mg kg⁻¹ PV de L-glutamato tres veces por semana, el grupo CONT recibió solución salina vía endovenosa los mismos días. Antes, al inicio y durante todo el periodo experimental se llevo a cabo un muestreo sanguíneo intermitente (tres veces por semana del 24 de Marzo al 02 de Mayo). No se encontró una diferencia significativa entre tratamientos para las variables PV ($P>0.1012$), CC ($P>0.6433$), INCRE ($P>0.3561$) y CE ($P>0.5467$). Sin embargo, NSI difirió entre tratamientos ($P<0.0411$), a favor del grupo GLU. Por lo tanto, mientras que las infusiones endovenosas de L-glutamato producen un efecto positivo sobre la liberación de insulina, ninguna de las características corporales o reproductivas medias fue influenciada por la administración de aminoácidos excitadores.

Palabras clave: aminoácidos excitadores, glutamato, insulina, fotoperiodo, machos caprinos.

SUMMARY. The effect of excitatory amino acids (AAE, L-glutamate), on goat male reproductive activity considering the variables scrotum circumference (CE), increase on scrotal circumference (INCRE), insulin level serum (NSI), body condition score (CC) and live weight (PV) was evaluated during a reproductive inhibitory photoperiod. The experiment was development in URUZA-UACH Southern Goat Research Unit, localized between 25° NL and 103° WL, at 1117 AMSL, between March to May. Bucks (n=6) were 24 month of age and an average body weight of 49.8 ±0.33 kg, received free access to a base diet of alfalfa hay (14 %PC; 1.14Mcal kg⁻¹ ENm) and silage corn (8.1 %PC; 1.62 Mcal kg⁻¹ ENm) to cover 100% of their nutritional requirements. Bucks were randomly assigned to one to two experimental groups: 1) L-glutamate group (GLU, n=3; PV = 50.3±0.33 kg, CC = 3.25±0.11 unit) and 2) Control group (CONT, n=3; PV = 49.3±0.33 kg, 3.16±0.11 unit). While the GLU group received infusions of 7 mg kg⁻¹ PV of L-glutamate three times a week the CONT group received a saline the same days. Before the applications of treatments, and from the onset of the experiment and during the all period an intermittent (three times for week, March 24th to May 2nd) blood sampling was carried out. No statistical differences were observed between treatments for either variable; PV ($P>0.1012$), CC ($P>0.6433$), INCRE ($P>0.3561$) and CE ($P>0.5467$). Nevertheless, NSI differed between treatments ($P<0.0411$), favoring to the GLU-Group. Therefore, while L-glutamate infusions produce a positive effect on insulin release, neither body characteristics non reproductive measurements were influenced by excitatory aminoacid administration.

Key words: excitatory amino acids, glutamate, insulin, photoperiod, male goat.

INTRODUCCION

La cabra ha sido una de las especies de interés zootécnico con mayor importancia para el hombre desde su domesticación, aproximadamente 8000 AC en las montañas de Zagros, al oeste de Irán, además de ser el segundo animal domesticado después del perro y el primero para consumo humano (Bedotti, 2008). La especie caprina, muestra un patrón de reproducción estacional y utilizan el fotoperiodo para programar su actividad reproductiva, iniciándose cuando el periodo de luz circadiano disminuye, lo que ocurre en otoño e invierno (Chemineau *et al.*, 2007). El efecto del fotoperiodo sobre el comportamiento reproductivo depende de la latitud, siendo mayor en las zonas alejadas al ecuador. Tanto el anestro estacional en la hembra y el reposo sexual en el macho caprino representan una señal ambiental que provoca la estacionalidad de producción de leche y cabritos, generando precios inestables para el productor (Chemineau *et al.*, 1998; Martin *et al.*, 2004a,b; Scaramuzzi *et al.*, 2006; Chemineau *et al.*, 2007).

En la Comarca Lagunera, ubicada en el norte del país, se registran débiles variaciones fotoperiodicas aunque importantes variaciones estacionales en la disponibilidad de alimento, por lo que la nutrición puede ser uno de los principales factores que modulen la actividad reproductiva (Carrillo *et al.*, 2010). En efecto, la suplementación nutricional puede ser importante en la inducción de la actividad sexual durante el periodo de reposo reproductivo (Urrutia-Morales *et al.*, 2009; Flores-Najera *et al.*, 2010; Rosales-Nieto *et al.*, 2011). En efecto, en rumiantes, cambios en las concentraciones plasmáticas de hormonas metabólicas son señales importantes que informan al eje reproductivo respecto al estado nutricional de los animales, afectando su comportamiento reproductivo (Gong, 2002; Meza-Herrera *et al.*, 2004; Scaramuzzi *et al.* 2006; Meza-Herrera *et al.* 2007). Esta estrecha relación entre el estado metabólicas y la función reproductiva se establece para asegurar que la función reproductiva este estrechamente alineadas con la disponibilidad de alimento (Gamez-Vazquez *et al.* 2008; Meza-Herrera *et al.*, 2008; Guerra-García *et al.* 2009; Meza-Herrera *et al.*, 2010 & 2011). Según Scaramuzzi *et al.*, (2006) el efecto agudo de la nutrición se refiere al incremento en la función reproductiva que ocurre después de una suplementación alimenticia de corto plazo en ausencia de cambios detectables en el peso vivo.

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la suplementación de aminoácidos excitadores (L-glutamato) como posible inductor de la actividad reproductiva del macho caprino durante el periodo natural

de reposo sexual medida como el incremento en la circunferencia escrotal y los niveles séricos de la hormona metabólica insulina. La hipótesis de trabajo consideró que la administración endovenosa de L-glutamato a machos de la raza Alpina durante fotoperiodos crecientes (inhibitorios) es capaz de incrementar los niveles séricos de insulina así como inducir la activación del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas expresado por un incremento en la circunferencia escrotal.

MATERIALES Y METODOS

Localización del área, fotoperiodo, animales y alimentación

El estudio se realizó en la Unidad de Experimentación Caprina Sur, de la Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas (URUZA), Universidad Autónoma Capingo (UACH), entre las coordenadas 25° 53' 31.99" LN y 103° 36' 11.23" LO, a 1117 msnm, durante Marzo y Mayo, con un régimen de luz natural y fotoperiodo creciente. Dicha época del año es considerada de baja actividad reproductiva en caprinos debido al efecto inhibitorio del fotoperiodo creciente sobre la función del eje hipotalámico-hipofisiario-gonadal (Delgadillo *et al.*, 2003). El área posee clima cálido-seco BW, con una extrema oscilación térmica, precipitación y temperatura media anuales de 217.1mm y 22.3 °C respectivamente. Seis machos Alpinos de 24 meses de edad y un peso promedio inicial de 49.8 ±0.33 kg, recibieron *ad libitum* una dieta a base de heno de alfalfa (14 %PC; 1.14Mcal kg⁻¹ ENm) y ensilado de maíz (8.1 %PC; 1.62 Mcal kg⁻¹ ENm), cubriendo el 100% de sus requerimientos nutricionales (NRC, 1981), se ofreció agua, sales minerales y sombra *ad libitum*. Los grupos experimentales recibieron heno de alfalfa por la mañana (0700) y ensilado de maíz por la tarde (1800). Tanto el peso vivo (PV), la condición corporal (CC) y la circunferencia escrotal (CE) fueron evaluados cada semana. La CC se evaluó mediante palpación dorsal y costal, utilizando una escala de 1 (muy flaco) al 5 (muy gordo).

Grupos experimentales y tratamientos.

Los machos fueron aleatoriamente distribuidos en dos grupos con PV y CC homogéneas. Cada grupo fue asignado a uno de dos tratamientos: 1) Grupo de L-Glutamato (GLU, n=3; PV = 50.3±0.33 kg, CC = 3.25±0.11 unidades), los cuales recibieron infusiones endovenosas de 7 mg kg⁻¹ PV de L-Glutamato (C₅H₁₀N₂O₃, Merck, Germany) tres veces por semana (lunes, miércoles y viernes), y 2) Grupo control, (CONT, n=3; PV = 49.3±0.33 kg, 3.16±0.11 unidades), los cuales recibieron una solución salina por vía endovenosa de 0.0875 mL kg⁻¹ PV los mismos días, con objeto de

homogenizar las condiciones de manejo en las cuales se desarrollo el experimento. Para la preparación de la solución de AAE, se pesaron 4 g de l-glutamato en una balanza analítica los cuales fueron disueltos en 50 mL de agua destilada estéril. Para facilitar dicho proceso, el l-glutamato y el agua destilada fueron combinadas en cantidades pequeñas agitando con vortex hasta disolver completamente la cantidad del soluto. Posteriormente, la solución fue ajustada a un pH neutro con HCl 0.1 N. la solución preparada contenía 80 mg de l-glutamato mL⁻¹. Todo el proceso de preparación de la solución se llevó a cabo en ambiente estéril.

Muestreo sanguíneo intermitente y perfil hormonal.

Previo a la aplicación del tratamiento y a lo largo de todo el periodo experimental se realizo un muestreo sanguíneo intermitente (tres veces por semana, 24 de marzo al 2 de mayo). Las muestras sanguíneas fueron colocadas de cada macho mediante venopunción de la vena yugular utilizando agujas estériles de 0.8x38mm (Becton Dickinson and Company) y tubos colectores estériles Vacutainer e 10 mL (Corvac, Sherwood Medical).

Una vez en laboratorio, las muestras se dejaron reposar a temperatura ambiente por 30 minutos hasta que ocurriera la retracción del coágulo. Las muestras fueron centrifugadas (1,500 x g, 15 min.), y cada muestra de suero con su réplica fueron vertidas en microtubos de polipropileno de 1.5 mL y almacenado a -20 °C. Se colectaron 18 muestras por macho, 54 muestras por tratamiento y un total de 108 muestras originales de suero. Todas las muestras de suero fueron evaluadas por su contenido de insulina mediante radioinmunoanálisis (RIA). Todos los análisis fueron realizados en el Laboratorio de Endocrinología del

Departamento de Ciencia Animal de la Universidad Estatal de Nuevo México, E.U.A.

Análisis estadísticos.

Los pesos corporales, la condición corporal, así como la circunferencia escrotal fueron evaluados por ANOVA dentro de un diseño completamente al azar con dos tratamientos y tres repeticiones por tratamiento. Las concentraciones séricas de insulina fueron evaluadas mediante un ANOVA-DCA con un arreglo de parcelas divididas para muestras repetidas en el tiempo (Morris, 1999). El efecto del tiempo de muestreo fue incluido en la parcela mayor, utilizando el término tiempo por macho (tiempo) para calcular el error. Tanto el tratamiento como la interacción tratamiento por tiempo fueron incluidos en la parcela menor. En el evento de un valor significativo de F, la separación de medias consideró el procedimiento PDIFF para probar sus diferencias mediante la opción LSMEANS del PROC GLM. Todos los análisis utilizaron los procedimientos del paquete estadístico SAS (Littell *et al.*, 1991). Se reportan las medias de mínimos cuadrados (MMC) ± el error estándar de la media.

RESULTADOS Y DISCUSION

De acuerdo a los resultados obtenidos durante el desarrollo del presente trabajo de investigación (Cuadro 1) se provee evidencia significativa del efecto de la aplicación endovenosa de l-glutamato sobre los niveles séricos de insulina en machos caprinos de la raza Alpina durante un fotoperiodo inhibitorio de la actividad sexual (P< 0.04). Sin embargo, no se observó una respuesta significativa a la aplicación del tratamiento para las variables CE e INCRE.

Cuadro 1. Efecto de aminoácidos excitadores (AAE) sobre circunferencia escrotal (CE), incremento en la circunferencia escrotal (INCRE) y niveles séricos de insulina (NSI) en machos caprinos de la raza alpina durante fotoperiodo creciente (Marzo-Mayo) en la Comarca Lagunera (25° LN) considerando PV y CC

Variables	AAE	CONTROL	EE ¹	NSO ²
PV, kg	50.33 ^a	49.33 ^a	0.33	0.10
CC, unidades	3.25 ^a	3.16 ^a	0.11	0.64
CE1, cm	23.63 ^a	24.80 ^a	0.77	0.34
CE2, cm	26.50 ^a	26.76 ^a	0.28	0.54
INCRE, cm	2.86 ^a	1.96 ^a	0.61	0.35
INSULINA, (ng/ml)	1.02 ^a	0.82 ^d	0.07	0.04

Números con diferente superíndice difieren significativamente (a " b: P<0.05).

¹EE, error estándar de medias de mínimos cuadrados más conservador

²NSO, nivel de significancia observado

AAE y circunferencia escrotal (CE).

Los resultados obtenidos después del análisis estadístico realizado para la variable circunferencia escrotal. Los resultados muestran una diferencia no significativa entre tratamientos ($P>0.5467$) para esta variable con medias del grupo experimental y control de $26.50^a \pm 0.28$ y $26.76^a \pm 0.28$ respectivamente (Figura 1).

AAE e incremento en la circunferencia escrotal testicular

La Figura 2 muestra los incrementos obtenidos en la circunferencia escrotal durante el periodo experimental. En donde ID 0, 3 y 4 corresponden a los animales del grupo tratado, mientras que ID 1,2 y 5 corresponden al grupo control.

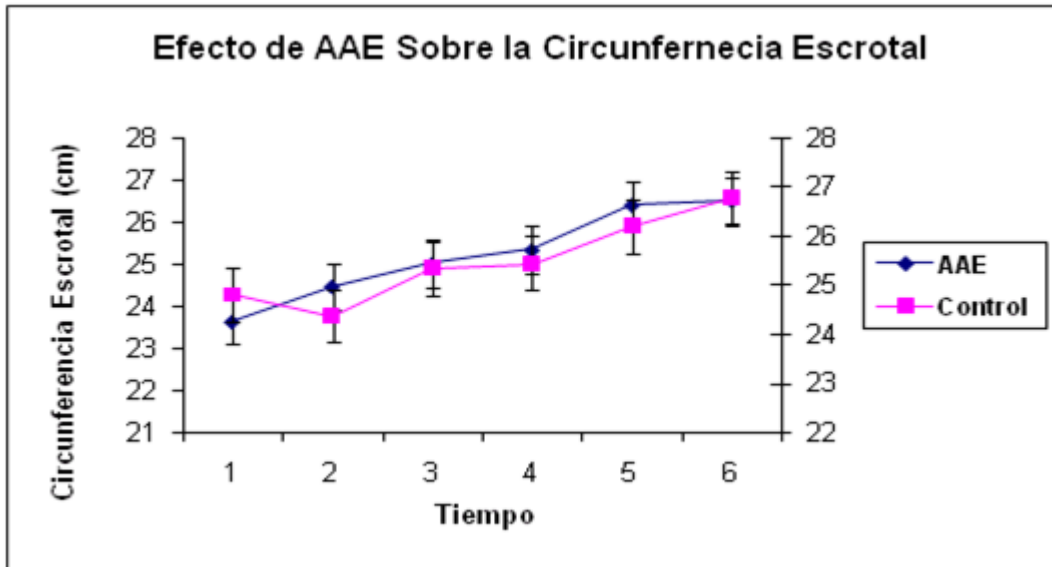


Figura 1. Cambios en la circunferencia escrotal (CE) de machos caprinos inyectados con AAE. —◆— (GLU, n=3; PV = 50.3 ± 0.33 kg, CC = 3.25 ± 0.11 unidades), quienes recibieron (1330-1430) infusiones endovenosas de 7 mg kg^{-1} PV de l-glutamato). Grupo control —■— (CONT, n=3; PV = 49.3 ± 0.33 kg, 3.16 ± 0.11 unidades), quienes recibieron una solución salina por vía endovenosa de $0.0875 \text{ mL kg}^{-1}$ PV.

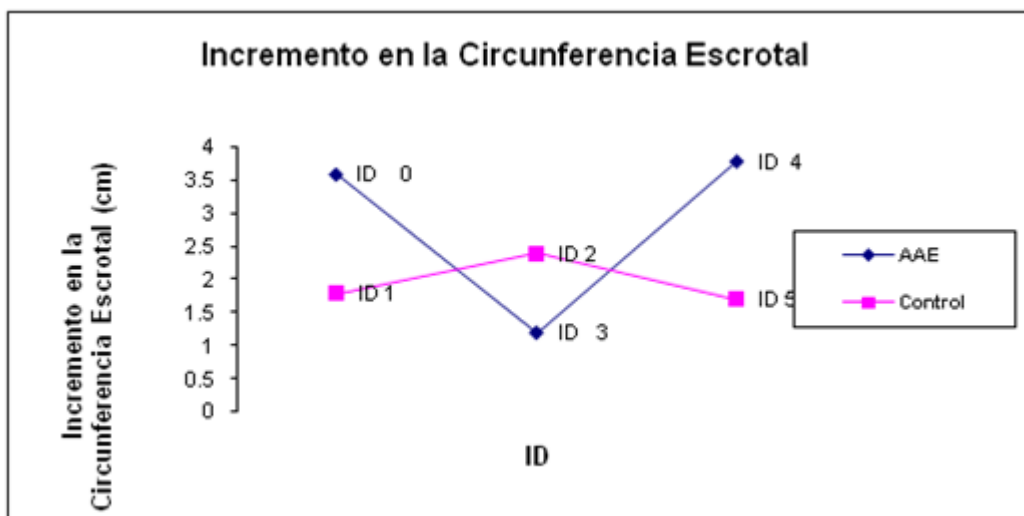


Figura 2. Incrementos en la circunferencia escrotal (INCRE) de machos caprinos inyectados con AAE. —◆— (GLU, n=3; PV = 50.3 ± 0.33 kg, CC = 3.25 ± 0.11 unidades), quienes recibieron (1330-1430) infusiones endovenosas de 7 mg kg^{-1} PV de l-glutamato). Grupo control —■— (CONT, n=3; PV = 49.3 ± 0.33 kg, 3.16 ± 0.11 unidades), quienes recibieron una solución salina por vía endovenosa de $0.0875 \text{ mL kg}^{-1}$ PV.

En base al análisis estadístico se determinó que no existe diferencia significativa entre tratamientos ($P > 0.3561$) con medias de $2.86^a \pm 0.61$ y $1.96^a \pm 0.61$ para el grupo experimental y el control respectivamente, obteniéndose los incrementos más altos en el grupo experimental a excepción de ID 3 en donde el macho de este grupo obtuvo el menor desarrollo testicular tanto del grupo tratado como del grupo control.

AAE y niveles séricos de insulina

Se observó una diferencia significativa entre tratamientos a favor del grupo experimental ($P < 0.0411$) con una media de $1.02^a \pm 0.07$ con respecto a $0.82^b \pm 0.07$ para el grupo control (Figura 3). Los valores de ambos grupos mantienen un comportamiento semejante sin diferencias significativas hasta el tiempo 15 y 16 donde se obtiene los valores más altos del grupo tratado que difieren significativamente del resto de las observaciones.

La relación positiva entre l-glutamato e insulina evidenciada en nuestros resultados es apoyada por otros investigadores quienes han desarrollado sus investigaciones sobre una base científica en ratones, ovinos e incluso humanos, pero no machos caprinos como hasta ahora. Storto *et al.* (2006), propone que l-glutamato promueve la secreción de la insulina a través de un mecanismo dependiente de mGlu5 en el cual la

activación de este receptor evoca la liberación de polifosfinitida a sí como de Ca^{2+} hacia los gránulos secretorios. Moriyama y Hayashi (2003), proponen a glutamato como un mediador de la secreción de insulina. Por su parte Bertrand *et al.* (2002); Maechler y Wollheim (1999), colocan a este aminoácido como un potenciador de la secreción de insulina estimulada por glucosa. Por lo tanto es viable el suponer la presencia de un sistema glutamatergico en las células pancreáticas beta en el que transportadores y receptores puedan estar trabajando de manera conjunta en la secreción de la insulina.

Liquin *et al.* (2002), reporta la presencia de transportadores VGLUT-1 en las células beta, mientras que Hinoi *et al.* (2004), Tohru. *et al.* (1994), Storto *et al.* (2006), demuestran la presencia de receptores glutamatergicos AMPA, NMDA y mGlu5 respectivamente en las células secretoras de insulina. En cuanto a la variable CE e INCRE, en el norte de México, la estacionalidad en machos caprinos ha sido bien documentada, observando un periodo de reposo sexual abarca del mes de enero a abril (Carrillo *et al.*, 2010). Por lo tanto dadas las circunstancias en las que se llevo a cabo el presente trabajo no podemos hacer de lado la presencia de un efecto del fotoperiodo sobre la expresión de la CE e INCRE.

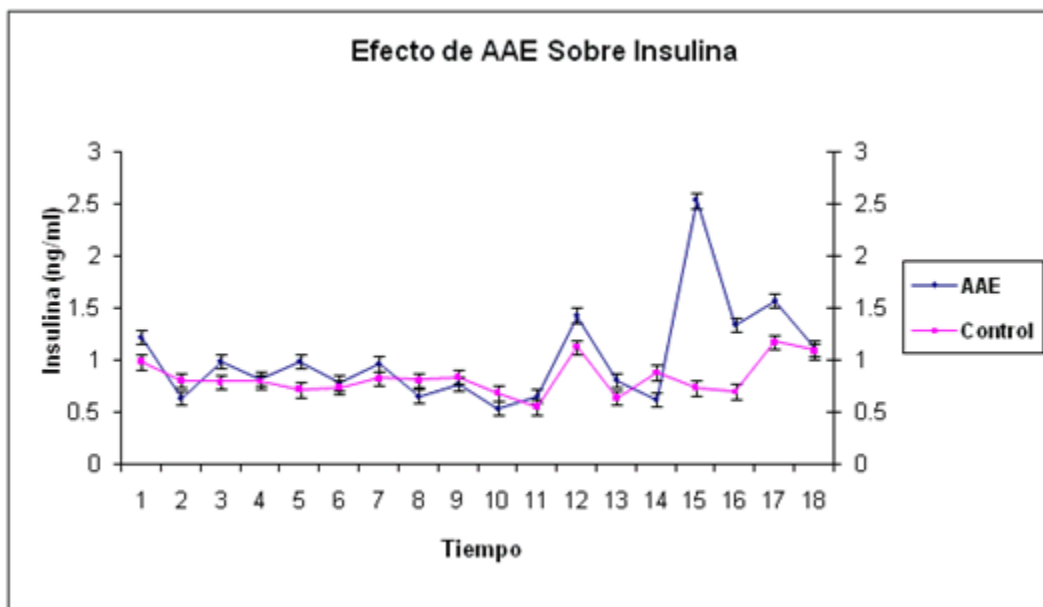


Figura 3. Niveles séricos de insulina en machos caprinos inyectados con AAE. —●— (GLU, n=3; PV = 50.3 ± 0.33 kg, CC = 3.25 ± 0.11 unidades), quienes recibieron (1330-1430) infusiones endovenosas de 7 mg kg^{-1} PV de l-glutamato). Grupo control —■— (CONT, n=3; PV = 49.3 ± 0.33 kg, 3.16 ± 0.11 unidades), quienes recibieron una solución salina por vía endovenosa de $0.0875 \text{ mL kg}^{-1}$ PV.

Al respecto, aun cuando se ha demostrado un efecto positivo de l-glutamato sobre la secreción de insulina (Chevassus *et al.*, 2002) y un efecto positivo de insulina sobre el eje reproductivo del macho (van Houten, 1980; Oomura, 1976), tal vez estos efectos no tuvieron ni la cantidad ni la duración requerida para estimular la función testicular, expresado como un incremento en estas variables. La administración de melatonina en el sistema nervioso central de la borrega por un corto periodo no estimuló la secreción de GnRH y LH durante el periodo de anestro (Romanowicz *et al.*, 2001), asimismo puede ser que la intensidad de luz produjera un efecto supresor mucho más fuerte que el efecto positivo que pudiera tener l-glutamato o insulina sobre el eje reproductivo considerando que una intensidad de luz de 2000 a 2500 lux por dos horas puede inhibir por completo la secreción de melatonina (Bokjowski *et al.*, 1987).

Además dado el comportamiento mostrado por INCRE, en la que dos de los machos del grupo tratado mostraron los mayores valores para esta variable, mientras que un tercero del mismo grupo mostro los valores más bajos dentro de ambos grupos. Por ello, es factible suponer que este disminuido desarrollo testicular pudo ser debido a un factor de estatus social en el que el macho se encontraba bajo la presión jerárquico-social de los otros miembros del grupo lo que impidió que no expresara de manera adecuada el efecto del tratamiento. Otra posible causa es que el desarrollo testicular haya sido condicionado por un efecto de alta temperatura aunque esto es poco probable ya que todos los animales estuvieron bajo igualdad de condiciones.

CONCLUSIONES

La administración de l-glutamato, bajo las condiciones experimentales del presente trabajo de investigación, a machos caprinos Alpinos en la Comarca Lagunera durante un fotoperiodo creciente no afectó significativamente la circunferencia escrotal e incremento en la circunferencia escrotal, sin embargo, si afectó los niveles séricos de insulina, durante el muestro intermitente. Lo anterior, sugiere un posible rol del glutamato como modulador de la función pancreática en caprinos; lo anterior puede ser de significancia tanto clínica como a nivel productivo.

LITERATURA CITADA

Bedotti, F., 2008. El Rol Social Del Ganado Caprino. Conferencia 31^a Congreso Argentino de Producción Animal, Potrero de los Funes, San Luís.

Bertrand G, Ishiyama N, Nenquin M, Ravier M, Henquin J.C. 2002. The Elevation of Glutamate Content and the Amplification of Insulin Secretion in

Glucose-stimulated Pancreatic Islets Are Not Causally Related. *the Journal of Biological Chemistry*. vol. 277(36):32883–32891.

- Bokjowski CJ, Aldhous ME, English J, *et al.* 1987. Suppression of nocturnal plasma melatonin and 6-sulphatoxymelatonin by bright and dimlight inman. *Horm. Metab. Res.* 19:437–40.
- Carrillo E., Meza-Herrera CA, Veliz-Deras FG. 2010. Reproductive seasonality of young French-Alpine goat bucks adapted to subtropical conditions in Mexico. *Rev. Mex. Ciencias Pec.* 1(2):169-178.
- Chemineau P, Martin GB, Saumande J, Normant E. 1998. Seasonal and hormonal control of pulsatile LH secretion in the dairy goat (*Capra hircus*). *J. Reprod. Fertil.* 83: 91-98.
- Chemineau O, Malpaux B, Brillard JP, Fostier A. 2007. Seasonality of reproduction and production in farm fishes, birds and mammals. *Animal*, 1: 419-432.
- Chevassus H, Renard E, Bertrand G, Mourand I, Puech R, Molinier Nathalie N, Bockaert J, Petit P, Bringer J. 2002. Effects of oral monosodium (L)-glutamate on insulin secretion and glucose tolerance in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol*, 53, 641–643.
- Flores-Najera M.J., C.A. Meza-Herrera, F.G. Echavarría, E. Villagomez, L. Iñiguez, H. Salinas, and A. Gonzalez-Bulnes. 2010. Influence of nutritional and socio-sexual cues upon reproductive efficiency of goats exposed to the male effect under extensive conditions. *Anim. Prod. Sci.* 50(9): 897-901.
- 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.* 7:1237-1240.
- Guerra-García M, Meza-Herrera CA, Sanchez-Torres-Esqueda MT, Gallegos-Sanchez J, Torres-Hernandez G, Pro-Martonez A. 2009. IGF-1 and ovarian activity of goats in divergent body condition and supplemented with non-degradable ruminal protein. *Agrociencia* 43: 241-247.
- Gong, J. G. 2002. Influence of metabolic hormones and nutrition on ovarian follicle development in cattle: practical implications. *Domest. Anim. Endocrinol.* 23: 229–241.
- Hinoi E, Takarada T, Ueshima T, Tsuchihashi Y, Yoneda Y. 2004. Glutamate signaling in peripheral tissues. *Eur. J. Biochem.* 271: 1–13.
- Liquin B, Xiaohong Z, Faye K.G. 2002. Characterization of vesicular glutamate transporter in pancreatic β - and δ -cells and its regulation by glucose. *J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 284: G808–G814.
- Littell C. R.; Freund, J. R.; Philip, C. 1991. SAS System for Linear Models, Third edition, Cary, NC: SAS Institute Inc., 329 pp.

- Maechler P, Wollheim, C.B. 1999. Mitochondrial glutamate acts as a messenger in glucose-induced insulin exocytosis. *Nature (London)* 402:685–689.
- Maechler P, Gjinovci A, Wollheim C.B. 1999. Implication of Glutamate in the Kinetics of Insulin Secretion in Rat and Mouse Perfused Pancreas. *Diabetes*, vol. 51, supplement 1.
- Martin GB, Rodger J, Blache D. 2004a. Nutritional and environmental effects on reproduction in small ruminants. *Reprod. Fertil. Develop.* 16: 491-501.
- Martin G, Milton J, Davidson R, Banchero Hunzicker G, Lindsay D, Blache D (2004b) Natural methods for increasing reproductive efficiency in small ruminants. *Anim. Reprod. Sci.* 82-83: 231–45.
- Meza-Herrera CA, Sanchez SJM, 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. Anim. Sci.* 34(Suppl. 1): 223-226.
- Meza-Herrera CA, Ross T, Hallford D, 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: 461-465.
- 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, Veliz-Deras FG, Wurzinger M, Lopez-Ariza B, Arellano-Rodriguez G, Rodriguez-Martinez R. 2010. The kiss-1, kisspeptin, gpr-54 complex: A critical modulator of GnRH neurons during pubertal activation. *J. Appl. Biomed.* 8: 1-9.
- Meza-Herrera CA, Gonzalez-Bulnes A, Kridli R, Mellado M, Arechiga-Flores CF, Salinas, H, Luginbhul JM. 2011. Neuroendocrine, metabolic and genomic cues signaling the onset of puberty in females. *Reprod. Dom. Anim.* In press. DOI: 10.1111/j.1439-0531.2009.01355.x
- Morris TR. 1999. Experimental designs and analyses in animal sciences. CABI-Publishing, New York, NY, USA., p. 208.
- Moriyama Y, Hayashi M. 2003. Glutamate-mediated signaling in the islets of Langerhans: a thread entangled. *Trends Pharmacol Sci* 24:511–517.
- NRC, 1981. Effect of environment on nutrients requirements of domestic animals. National Research Council. National Academic Press, Washintong, D, C. 152 pp.
- Oomura Y. 1976. Significance of glucose, insulin, and free fatty acids on the hypothalamus feeding and satiety neurons. In: Novin D, Wyrwicka W, Bray G (eds.), *Hunger: Basic Mechanisms and Clinical Implications*. New York: Raven Press 145–157.
- Romanowicz KM, Gajewska A, Barcikowski B. 2001. Daily GnRH and LH secretion in ewes is not modified by exogenous melatonin during seasonal anestrus. *Acta Neurobiologiae Experimentalis* 61: 289-297.
- Rosales-Nieto, C.A., H.G. Gamez-Vazquez, J. Gudino-Reyes, E.A. Reyes-Ramirez, M. Eaton, R.L. Stanko, C.A. Meza-Herrera, A. Gonzalez-Bulnes. 2011. Nutritional and metabolic modulation of the male effect upon resumption of ovulatory activity of goats. *Anim. Prod. Sci.* 51(2): 115-122.
- Scaramuzzi R. J.; Campbell, B. K.; Downing, J. A.; Kendall, N. R.; Khalid, M.; Muñoz-Gutierrez, M.; Somchit, A. 2006. A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. *Reprod. Nutr. Dev.* 46:339–354.
- Storto M, Sallase M, Salvatore L, Poulet R, Condorelli D F, Albani P Dell', Marcello M F, R Romeo, Piomboni P, Barone, Nicoletti N F y De Blasi A. 2001. Expression of metabotropic glutamate receptors in the rat and human testis. *Journal of Endocrinology* 170:71–78.
- Storto M, Capobianco L, Battaglia G, Molinaro G, Gradini R, Rizzo B, Di Mambro A, Mitchell K, Bruno V, P. Vairetti, y Ferdinando, N. 2006. Insulin Secretion Is Controlled by mGlu5 Metabotropic Glutamate Receptors. *Mol Pharmacol* 69:1234–1241.
- Tohru GS, Nobuhisa M, Nobuya I, Hiroshi K, Yutaka S, Miyazaki J, Susumu S. 1994. Functional Neuronal Ionotropic Glutamate Receptors Are Expressed in the Non-neuronal Cell Line MIN6. *The journal of abliologicahle mistry* 16989-16992.
- Urrutia-Morales, J., C.A. Meza-Herrera, F.J. Escobar-Medina, H.G. Gamez-Vazquez, B.M. Ramirez-Andrade, M.O. Diaz-Gomez, and A. Gonzalez-Bulnes. 2009. Relative roles of photoperiodic and nutritional cues in modulating ovarian activity in goats. *Reprod. Biol.* 9(3):283-294.
- Van Houten M, Posner BI, Kopriwa BM y Brawer JR. 1980. Insulin binding sites localized to nerve terminals in rat median eminence and arcuate nucleus. *Science*; 207:1081–1083.