

Comunicación

EFICIENCIA REPRODUCTIVA DE OVEJAS CON DIFERENTE CONDICIÓN CORPORAL TRATADAS CON MELATONINA DURANTE EL ANESTRO ESTACIONAL

Reproductive efficiency in ewes with different body condition treated with melatonin during anestrus season

Sarracini D¹, Franco CA¹, Martínez D¹, Vázquez MI^{1,2*}

¹Departamento de Reproducción Animal - Facultad de Agronomía y Veterinaria,

²Instituto de Ciencias Veterinarias (INCIVET) - CONICET; Universidad Nacional de Río Cuarto

*E-mail de contacto: isavazquez.arg@gmail.com

RESUMEN

El objetivo fue evaluar el efecto de la melatonina exógena sobre la eficiencia reproductiva en ovejas con diferente condición corporal inicial (CCi), durante el anestro estacional. Se utilizaron (31) ovejas adultas mestizas, separadas en 2 grupos según CCi (escala 1-5): gordas (G, CCi = 3,8 ± 0,1) o flacas (F, CCi = 2,7 ± 0,1). A su vez, cada grupo se separó en 2 subgrupos, considerando la colocación (+MEL) o no (-MEL) de un implante de melatonina exógena. El diseño incluyó 4 grupos: G-MEL, G+MEL, F-MEL y F+MEL. Todos los animales recibieron una dieta de mantenimiento a base de alfalfa, maíz y agua *ad-libitum*. Tras 40 días de colocación de MEL, se indujo la ovulación y se realizó Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (IATF) a todas las hembras, 48 h después del retiro de las esponjas intravaginales. A los 14 d post-IATF, se detectaron los retornos al celo, durante 21 días. Las hembras que retornaron al celo recibieron servicio dirigido. Se realizó ecografía ovárica, a los 7 d post-IATF, para determinar presencia y área de cuerpo lúteo (CL). El diagnóstico de gestación se realizó por ecografía a los 30 d y 50 d post-IATF. La CC presentó diferencias entre los grupos G y F, durante todo el periodo experimental. Hubo efecto MEL sobre la ovulación en las ovejas flacas. No hubo diferencias en el número de ovejas flacas que retornaron al celo, aunque el porcentaje de preñez favoreció a las ovejas de dicho grupo. Se observó efecto luteogénico de MEL en el CL y en la fertilidad general de las ovejas G+MEL. En las condiciones del presente trabajo, la melatonina exógena favoreció la ovulación y el reinicio de la actividad ovárica en ovejas de baja CCi durante el anestro estacional, aunque el efecto sobre la mejora de la fertilidad solo se observó en ovejas gordas.

Palabras clave. melatonina exógena, condición corporal, eficiencia reproductiva, anestro estacional, ovejas.

ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate the melatonin effects on the reproductive efficiency of ewes with different initial body condition score (iBCS) during anestrus season. It was carried out at Río Cuarto in Argentina (30°07'S, 64°14'W). Thirty-one (31) adult crossbred sheep were separated into 2 groups according to their iBCS (scale 1-5): fat (G, CC: 3.8 ± 0.1) or thin (F, CC=2.7 ± 0.1). In turn, each of them was separated into 2 groups, considering the treatment (+MEL) or not (-MEL) with a melatonin implant. Thus, the design included 4 groups: G-MEL, G+MEL, F-MEL and F+MEL. In order to cover maintenance, all animals received a diet based on alfalfa hay and corn grain and *ad-libitum* water. After 40 days from insertion of melatonin implants, all females received a treatment to induce ovulation and a fixed time artificial insemination (FTAI) were made via cervical, with fresh semen, at 48 h after the removal of the intravaginal sponges. Fourteen days after FTAI, estrus were detected, once per day, using a vasectomized ram, during a period of 21 d. The females that returned to estrus were mated with an adult male. Ovarian ultrasound was performed at 7 days post-IATF to determine the presence and area of the corpora luteal (CL). The pregnancy diagnosis was made by ultrasound at 30 and 50 days post-FTAI. The BCS presented differences between groups G and F, during the entire experimental period. There was an effect of exogenous melatonin on ovulation in F ewes. There were no differences in the number of F ewes that returned to estrus, although the percentage of general pregnancy was better on this group. A luteogenic effect of melatonin was observed in G+MEL ewes, due to the presence of a larger CL area compared to the rest of the treatments. On the other hand, melatonin improved fertility in G+MEL sheep compared to G-MEL, however, this effect was not observed among the F groups. Under the conditions of this work, the use of exogenous melatonin increased ovulation rate and the resumption of ovarian function in ewes with low iBCS during seasonal anestrus, although the effect on fertility was only observed in G ewes.

Key words. exogenous melatonin, body condition score, reproductive efficiency, anestrus, sheep.

Recibido: Mayo 2022

Aceptado: Octubre 2022

Introducción

El ovino es una especie poliéstrica estacional, caracterizada por presentar una época de actividad reproductiva y otra de inactividad reproductiva, denominada anestro estacional. La estacionalidad reproductiva está regulada por la melatonina (MEL) (Abecia Martínez y Forcada Miranda 2010). La mencionada hormona puede ser administrada de manera exógena, siendo los dispositivos subcutáneos implantados en la base de la oreja los más utilizados, ya que inducen una liberación continua de la hormona (Abecia Martínez y Forcada Miranda 2010). Se han reportado efectos beneficiosos de la MEL sobre la tasa de ovulación, produciendo un mayor número de folículos ovulados, ya que disminuye el proceso de atresia de los folículos medianos de la onda folicular preovulatoria (Nöel et al. 1999). La bibliografía presenta resultados contradictorios respecto a los efectos de la hormona sobre el embrión, aunque se ha comprobado un efecto luteotrófico de la MEL, que colaboraría con la supervivencia embrionaria (Vázquez 2009).

Por otro lado, la nutrición es un factor importante que influye en la reproducción. Al respecto, se determinó que una correcta nutrición, favorece un retraso en el inicio del anestro estacional, reduce la cantidad de ovejas anovulatorias durante el periodo de anestro y mejora la tasa de ovulación (Abecia Martínez y Forcada Miranda 2010). Por el contrario, la subnutrición produce una disminución de la secreción de gonadotropinas, una disminución en la tasa de ovulación y de fecundación, un aumento de la secreción de PGF 2α , y una inadecuada calidad del ovocito ovulado, lo que disminuye la supervivencia embrionaria (Vázquez 2009). Dada la importancia de la nutrición sobre la actividad reproductiva de las hembras, es imprescindible hacer un seguimiento del impacto de la misma en el animal. La condición corporal (CC) es una herramienta que permite evaluar los depósitos de grasa corporal subcutánea en el animal. Es una práctica de fácil aplicación, con resultados satisfactorios, que establece puntajes para determinar el nivel de cobertura grasa (escala de 1 a 5 puntos). La asignación del puntaje se efectúa mediante palpación de la columna vertebral, detrás de la última costilla, en las apófisis transversas y espinosas de las vértebras lumbares (De Gea 2007).

Por lo mencionado anteriormente, la hipótesis del presente trabajo es que la utilización de implantes de melatonina exógena mejora la eficiencia reproductiva en ovejas con baja condición corporal al momento del servicio y/o la Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (IATF). El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de la utilización de melatonina exógena sobre eficiencia reproductiva en ovejas con diferente condición corporal inicial (CCi), durante el anestro estacional.

Materiales y Métodos

El trabajo se llevó a cabo en las instalaciones del Departamento de Reproducción Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto (UNRC), en Río Cuarto, Córdoba, Argentina (30° 8' S, 64° 20' O), durante los meses de octubre a diciembre. Se utilizaron 31 ovejas adultas, mestizas (Razas Corriedale, Pampinta y

Texel), en anestro estacional (ausencia de cuerpo lúteo determinada por ultrasonografía ovárica), las cuales se separaron en 2 grupos de acuerdo a su condición corporal inicial: gordas (CCi: 3,8 \pm 0,1) o flacas (CC: 2,7 \pm 0,1) (escala 1-5, Test de Levene, $P < 0,05$). A su vez, cada uno de estos grupos se separó en 2 grupos, considerando la colocación o no de un implante subcutáneo de melatonina exógena (Melovine®, CEVA, España). De esta manera, el diseño experimental incluyó 4 grupos: (G-MEL) ovejas gordas que no fueron implantadas con melatonina, (G+MEL) ovejas del grupo gordas que recibieron un implante de melatonina, (F-MEL) ovejas del grupo flacas que no recibieron implante de melatonina y (F+MEL) ovejas del grupo flacas que recibieron un implante de melatonina. Todos los animales recibieron una dieta a base de heno de alfalfa y grano de maíz (aportando 12,4 MJ de energía metabolizable y 9 % de proteína bruta, por día y por oveja), a fin de cubrir los requerimientos de mantenimiento de las hembras adultas (NRC 2007). Los animales se alimentaron una vez al día, por la mañana, en el corral correspondiente a cada grupo experimental y tuvieron libre acceso al agua.

Cuatro carneros adultos, de razas Corriedale (n=2) y Hampshire Down (n=2), estabulados y entrenados para la obtención de semen con vagina artificial recibieron cada uno, tres (3) implantes subcutáneos de melatonina exógena, los cuales fueron implantados el mismo día que las ovejas. Tras 40 días desde la colocación de los implantes de melatonina, todas las hembras recibieron un tratamiento para inducir la ovulación y realizar la Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (IATF), vía cervical utilizando semen fresco. Para ello, el día 40, se colocaron esponjas intravaginales impregnadas con un progestágeno (Progespon®, Syntex, Argentina). El día 47 se procedió al retiro de las esponjas intravaginales y la colocación intramuscular de 400 UI de gonadotropina coriónica equina (eCG) (Novormon®, Syntex, Argentina). La IATF se realizó 48 horas posteriores al retiro de las esponjas intravaginales (Día 49). Dos horas previas al momento óptimo de realizar la IATF, se procedió a obtener y evaluar el semen de los reproductores, así como también a realizar la dilución del mismo, para ser utilizado en la IATF. El semen fue diluido con leche descremada, según la metodología descrita por Evans y Maxwell (1990). Luego de 14 días de haber realizado las inseminaciones, se procedió a la detección de los retornos al celo, utilizando un capón androgenizado, con 4 dosis de testosterona (T4, Argentina), desde los 35 días previos a su utilización. Al mismo, se le colocó un delantal y se procedió a pintar en la zona del pecho (Ferrite®, Tecno King, Argentina), a fin de marcar a las hembras en celo en el momento de la monta. Toda hembra que se detectó en celo, fue separada para recibir servicio con un macho entero, raza Corriedale. La detección de celo se realizó una vez al día, por la mañana, desde el día 14 hasta el día 20 post-IATF. La condición de anestro, se confirmó a los días -14 y -7 antes del inicio del experimento y en el día 35, previo a la colocación de las esponjas (Día 0=inserción de implantes de MEL). Para ello, se realizó una ecografía ovárica para verificar la ausencia de cuerpos lúteos (Equipo Berger, transductor lineal transrectal, de 3,5 MHz). Se determinó la condición corporal en todas las hembras en diferentes momentos del experimento: previo al inicio del tratamiento (Día -1), al momento de la colocación

de las esponjas (Día 41) y al momento de la realización del diagnóstico de gestación por ultrasonografía (Día 79). Siete días después de la realización de la IATF, se realizó una ecografía ovárica, para determinar la presencia y cantidad (número) de cuerpos lúteos, a fin de confirmar las ovulaciones. El diagnóstico de la gestación se realizó a los 30 y a los 50 días post-IATF (en las ovejas que retornaron al celo).

Las CC se analizaron con un test de Levene, ANVA (SAS Institute, NC, USA; 1999) para cada una de las fechas realizadas (Días -1, 41 y 79). Los datos de tasa ovulatoria (%), área (cm²) y perímetro (cm) del cuerpo lúteo (CL) se evaluaron por análisis de varianza utilizando un modelo proc. genmod (SAS Institute, NC, USA; 1999), que incluyó el implante de melatonina (presencia o ausencia), la CCI y la interacción entre ambas, como efectos. Los parámetros reproductivos (preñez a la IATF, preñez con servicio natural y preñez total) expresados como porcentajes fueron comparados con la prueba de Chi cuadrado. El nivel de significancia se estableció en $P < 0,05$. Todos los resultados se expresan como medias \pm error estándar de la media (EEM).

Resultados y Discusión

El objetivo general del presente trabajo fue determinar el efecto de la utilización de melatonina exógena sobre la viabilidad embrionaria en ovejas con diferente condición corporal inicial, durante el anestro estacional.

Se observó que las CC presentaron diferencias entre grupos gordas y flacas, durante todo el período experimental (Tabla 1; $P < 0,05$), lo cual era esperado para poder evaluar los objetivos planteados en este experimento.

En el presente trabajo, todas las ovulaciones fueron confirmadas a través de una ecografía ovárica realizada a los 7 días post IATF. Se observa que en los grupos (G-MEL) y (G+MEL), el 100% de las hembras ovuló tras el tratamiento hormonal utilizado, mientras que en los grupos de ovejas flacas se observaron diferencias en el porcentaje de ovulación, favoreciendo dicho parámetro a las ovejas flacas implantadas con la hormona (Tabla 2; $P < 0,05$). Este resultado confirma que la melatonina mejoró la tasa ovulatoria de las ovejas flacas, compensando el efecto adverso de la restricción nutricional.

Además, se encontró un menor porcentaje de preñez total en el grupo (G-MEL) comparado a los otros tres grupos experimentales (Tabla 2; $P < 0,05$). No hubo diferencias significativas entre grupos al considerar el porcentaje de preñez tras la IATF o para aquellas hembras que retornaron al celo naturalmente post-tratamiento (Tabla 2). Al respecto, en el estudio realizado por Forcada *et al.* (2018), observaron que la fertilidad se incrementó en alrededor de un 30%, en aquellas ovejas implantadas con melatonina que habían recibido un bajo nivel de alimentación durante el experimento, considerando el celo inducido más el retorno. En concordancia, en nuestro trabajo también se observó que la tasa de preñez total se vio beneficiada por la sumatoria de los celos inducidos más el retorno, aunque nuestros resultados no fueron concluyentes respecto al efecto de la melatonina, debido a que el grupo (F-MEL) también mejora el retorno al celo (Tabla 2). Estos resultados generan nuevas hipótesis de trabajo, tales como continuar investigando sobre los efectos de la interacción social entre hembras y su

combinación con el uso de la melatonina exógena en el anestro. En el trabajo de Buffoni *et al.* (2014), observaron que el uso de melatonina en anestro no mejoró la fertilidad ni la viabilidad embrionaria en ovejas donantes en programas de ovulación múltiple y transferencia de embriones (MOET), aunque observaron una reducción significativa en el número de embriones no viables (degenerados) en las ovejas implantadas durante la temporada no reproductiva. Por otro lado, Vázquez *et al.* (2010), no encontraron diferencias significativas ni efectos de la interacción nutrición y tratamiento con melatonina sobre la tasa de ovulación, aunque observaron una mejora significativa en la viabilidad embrionaria en el día 5 después del estro en las ovejas subnutridas e implantadas (L-MEL: 40% vs. L+MEL: 100%). Trabajos previos de nuestro grupo en Argentina, encontraron un efecto de la melatonina sobre las tasas de preñez en el anestro, especialmente en el grupo de ovejas subnutridas (C: 50%, C+MEL: 83%, L-MEL: 50% y L+MEL: 67%, $p < 0,01$) (Vázquez *et al.* 2016; Chaves *et al.* 2017).

La mejora observada en la supervivencia embrionaria de ovejas implantadas con melatonina podría atribuirse al efecto positivo de la hormona sobre la función luteal, los mecanismos antiluteolíticos reducidos y la mejora en la calidad del embrión, según lo reportado por Abecia *et al.* (2019). En coincidencia con esos reportes, en el presente trabajo, se observó un efecto luteogénico de la melatonina en las ovejas (G+MEL), debido a la mayor área y perímetro del CL en comparación con el resto de los tratamientos, a los 7 días post-IATF (Tabla 3; $P < 0,05$). Según Forcada *et al.* (2018), la combinación de esponja vaginal más gonadotrofina coriónica equina (eCG) como tratamiento clásico en la sincronización de ovejas implantadas con melatonina supone una mejora en la fertilidad, debido a que la melatonina podría permitir los retornos al celo en aquellas ovejas que no quedaban preñadas tras la aplicación de la IATF. También Vázquez *et al.* (2016) y Chaves *et al.* (2017) observaron que solo ovejas que habían sido tratadas con un implante de melatonina y no habían quedado preñadas luego del celo inducido, tuvieron un retorno al celo de manera natural. Por el contrario, en el presente trabajo, no se observó un efecto de la melatonina sobre el retorno al celo natural, ya que hubo presentación de celos en todos los grupos, excepto en (G-MEL). Podría hipotetizarse que debido a la cercanía de los corrales donde se alojaban las hembras de los diferentes grupos (corrales contiguos), se produjeron los llamados celos por simpatía, lo cual podría explicar la falta de efectos entre grupos, debido a la interacción de los factores sociales con la variable mencionada (Abecia Martínez y Forcada Miranda 2010).

En un estudio realizado por Luridiana *et al.* (2015), concluyeron que ovejas con una CC de 3,5-4,0 (escala 1-5) mejoraron su eficiencia reproductiva como respuesta al tratamiento con melatonina en la primavera, respecto a las ovejas con una CC de 2,5-3,0. Por el contrario, en el presente trabajo, no se observaron efectos de la interacción entre la CC inicial y el tratamiento con melatonina (Tabla 2), aunque se observó un efecto de la melatonina mejorando el porcentaje de preñez a la IATF en los grupos de ovejas flacas (F-MEL: 0%, F+MEL: 11,1%; $P < 0,05$). Adicionalmente, Luridiana *et al.*

Tabla 1. Evolución de la condición corporal (CC) en ovejas mestizas, con diferente condición corporal inicial (gordas-G- o flacas-F-), tratadas (+MEL) o no (-MEL) con implantes de melatonina exógena, alimentadas con una dieta de mantenimiento, durante todo el periodo experimental. Los valores son medias \pm EEM.

Table 1. Evolution of body condition score (BCS) in crossbred ewes, with different initial BCS (fat-G or thin-F), treated (+MEL) or not (-MEL) with exogenous melatonin implant, with a maintaining diet during the entire experimental period. Values are means \pm SEM.

Determinación de CC	G -MEL	G +MEL	F -MEL	F +MEL
Previo al inicio experimento (Día -1)	3,85 \pm 0,14 a	3,75 \pm 0,07 a	2,75 \pm 0,10 b	2,75 \pm 0,11 b
Durante experimento (Día 41)	3,89 \pm 0,12 a	3,96 \pm 0,14 a	2,81 \pm 0,14 b	2,61 \pm 0,12 b
Ecografía diagnóstico gestación (Día 79)	3,60 \pm 0,12 a	3,39 \pm 0,10 a	2,71 \pm 0,14 b	2,47 \pm 0,13 b

Letras diferentes en la misma línea indican diferencias significativas (Test de Levene, $P < 0,05$).

Tabla 2. Parámetros reproductivos evaluados en ovejas mestizas con diferente condición corporal inicial (Gordas-G o Flacas-F), tratadas (+MEL) o no (-MEL) con melatonina exógena durante el anestro estacional.

Table 2. Reproductive parameters in crossbred ewes, with different initial BCS (fat-G or thin-F), treated (+MEL) or not (-MEL) with exogenous melatonin implant, during the anestrus period.

Variabes	G-MEL	G+MEL	F-MEL	F+MEL
N° de Ovejas	7	7	8	9
Ovejas que ovularon post tratamiento (%)	100 a	100 a	50 b	88,9 a
Preñez a la IATF (%)	14,3	14,3	0	11,1
N° de ovejas que retornaron al celo	0	1	3	2
Preñez con servicio natural (%)	0	100	100	100
Preñez total (%)	14,3 b	28,6 a	37,5 a	33,3 a

Letras diferentes en la misma línea indican diferencias significativas (Prueba de Chi cuadrado, $P < 0,05$).

Tabla 3. Área (cm²) y perímetro (cm) del cuerpo lúteo, observadas por ecografía a los 7 días post inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) en ovejas mestizas, con diferente condición corporal inicial (Gordas-G o Flacas-F), tratadas (+MEL) o no (-MEL) con melatonina exógena durante el anestro estacional. Los valores son medias \pm EEM.

Table 3. Area (cm²) and perimeter (cm) of corpus luteum determined by ultrasound at Day 7 after fixed time artificial insemination (FTAI), in crossbred ewes, with different initial CC (fat-G or thin-F), treated (+MEL) or not (-MEL) with exogenous melatonin implant, during the anestrus period. Values are means \pm SEM.

Cuerpo Lúteo	G -MEL	G +MEL	F -MEL	F +MEL
Área (cm ²)	0,11 \pm 0,01 b	0,16 \pm 0,02 a	0,07 \pm 0,03 b	0,09 \pm 0,01 b
Perímetro (cm)	1,25 \pm 0,10 b	1,43 \pm 0,10 a	1,24 \pm 0,02 b	1,07 \pm 0,03 b

Letras diferentes en la misma línea indican diferencias significativas (proc. genmod SAS, $P < 0,05$).

(2015), observaron que las ovejas tratadas con melatonina comenzaron el apareamiento aproximadamente una semana antes que los animales control, por lo que, en su trabajo demostraron que los animales implantados con melatonina comenzaban su época de apareamiento antes que los animales no implantados. También Forcada *et al.* (1995) observaron que el intervalo medio de días entre el destete y el primer celo fue significativamente menor para el grupo tratado con melatonina en comparación con el grupo control. En nuestro trabajo, esto no fue posible de observar debido a que se realizó un tratamiento hormonal para inducir la ovulación durante el anestro estacional.

Conclusiones

En las condiciones del presente trabajo, la utilización de la melatonina exógena favoreció la ovulación y el reinicio de la actividad ovárica en las ovejas de baja CC inicial durante el anestro estacional, aunque el efecto sobre la mejora de la fertilidad solo se observó en las ovejas de mejor CC inicial

(gordas). Existen en la literatura científica, resultados semejantes a los encontrados en este trabajo, los cuales fundamentan que, la utilización de melatonina puede ser muy útil para amortiguar los efectos adversos de la subnutrición y/o de una baja CC en el momento del servicio y/o del anestro estacional, mejorando la eficiencia reproductiva. Sin embargo, debido a la cantidad de factores externos e internos que influyen sobre el eje reproductivo e impactan en los resultados finales, es necesario realizar más estudios sobre la interacción melatonina-nutrición en Argentina.

Agradecimientos

El presente proyecto ha sido financiado por el proyecto PIP2014-2016, CONICET. Se agradece al M.V. Daniel Bovetti por la donación de las ovejas utilizadas en el desarrollo del trabajo y al Sr. Pablo Avanzini por la excelente predisposición para la provisión de megafardos de calidad para este trabajo.

Consideraciones de ética y bienestar animal

El presente trabajo se realizó siguiendo la normativa Internacional de Ética Animal para animales de experimentación (NRC 1996) y cuenta con la aprobación del Comité de Ética de la Investigación (COEDI) de la Universidad Nacional de Río Cuarto (Expediente n°46/14).

Bibliografía

- Abecia Martínez A, Forcada Miranda F (2010) Manejo reproductivo en ganado ovino. (Editorial Servet: Zaragoza, España).
- Abecia JA, Forcada F, Vázquez MI, Blanco-Muiño T, Pérez-Cebrián JA, Pérez-Pe R, Casao A (2019) Role of melatonin on embryo viability in sheep. *Reproduction, Fertility and Development* **31**, 82-92.
- Buffoni A, Vozi PA, Gonzalez DM, Rios G, Viegas-Bordeira H, Abecia JA (2014) The effect of melatonin and season on *in vivo* embryo production of Dohne Merino ewes. *Small Ruminant Research* **120**, 121-124.
- De Gea, G (2007) El ganado lanar en la Argentina. 2^{da} Edición. (Departamento de Imprenta y Publicaciones de la UNRC: Río Cuarto, Argentina).
- Chaves MA, Franco CA, Martinez D, Miazzo A, Vázquez MI (2017). Exogenous melatonin improves resumption of ovarian function in undernourished ewes during anestrus season in Argentina. *Revista Brasileira Reproducao Animal* **41**, 473.
- Evans G, Maxwell WMC (1990) Salamon's inseminación artificial de ovejas y cabras. Edición en lengua española. (Editorial Acribia S.A.: Zaragoza, España).
- Forcada F, Zarazaga I, Abecia JA (1995) Effect of exogenous melatonin and plane of nutrition after weaning on estrous activity, endocrine status and ovulation rate in Salz ewes lambing in the seasonal anestrus. *Theriogenology* **43**, 1179-1193.
- Forcada F, Abecia A, González de Bulnes A (2018) Influencia del fotoperiodo sobre la actividad reproductiva de la oveja. La melatonina como herramienta de control de la reproducción. Monografía, Fac. de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, Zaragoza, España.
- Luridiana S, Mura MC, Daga C, Farci F, Di Stefano MV, Zidda F, Carcangiu V (2015) Melatonin treatment in spring and reproductive recovery in sheep with different body condition score and age. *Animal Reproduction Science* **160**, 68-73.
- Nöel B, Mandiki SMN, Perrad B, Bister JL, Paquay R (1999) Terminal follicular growth, ovulation rate and hormonal secretion after melatonin pre-treatment prior to FGA-PMSG synchronization in Suffolk ewes at the onset of breeding season. *Small Ruminant Research* **32**, 269-277.
- [NRC] National Research Council (2007) Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and new world camelids (National Academies Press; Washington, DC).
- [SAS] Statistical Analysis System (1999) Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Vázquez MI (2009) Efectos de la melatonina exógena sobre la viabilidad embrionaria en situaciones de subnutrición en la oveja. Tesis Doctoral, Fac. de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, Zaragoza, España.
- Vázquez MI, Abecia JA, Forcada F, Casao A (2010) Effects of exogenous melatonin on *in vivo* embryo viability and oocyte competence of undernourished ewes after weaning during the seasonal anestrus. *Animal Reproduction Science* **74**, 618-626.
- Vázquez MI, Chaves MA., Filas J, Martinez D, Díaz M., Torres M (2016) Effects of exogenous melatonin on resumption of ovarian function in undernourished ewes at Argentina. *Animal Reproduction* **14**, 188.