ITEA (2002), Vol. 98A N.º 1, 51-58

EFECTO DEL TRATAMIENTO CON MELATONINA Y DEL PLANO DE ALIMENTACIÓN SOBRE LOS PARÁMETROS REPRODUCTIVOS DE OVEJAS RASA ARAGONESA

J.A. Abecia, F. Forcada, O. Zúñiga, J.A. Valares

Dept. Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Facultad de Veterinaria, Miguel Servet, 177, 50013 Zaragoza, España

RESUMEN

Con el objetivo de determinar el efecto del tratamiento con melatonina y del plano de alimentación sobre los parámetros reproductivos de ovejas anoéstricas de raza Rasa Aragonesa, el 21 de marzo se colocaron implantes de melatonina a la mitad de los efectivos (lote tratado, M, n = 21) de dos grupos de ovejas alimentadas para cubrir 1.2 (lote alto, A, n = 20) ó 0,5 (lote bajo, B, n = 22) veces las necesidades de mantenimiento, quedando el resto de los animales como control (lote control, C, n = 21). Así, la experiencia quedó como un diseño factorial 2 x 2 (AM, n = 10; BM, n = 11; AC, n = 10; BC, n = 11). El 5 de mayo, 45 días tras la colocación de los implantes, se iniciaron las cubriciones. No se observaron diferencias significativas ni para el porcentaje de ovejas en celo ni para la fertilidad, aunque se detectó un efecto significativo del tratamiento con melatonina sobre la tasa de ovulación ($P < 0,01$), y una tendencia a la significación para el efecto del plano de alimentación ($P < 0,1$) (AM: 1,89 ± 0,26; AC: 1,33 ± 0,17; BM: 1,50 ± 0,17; BC: 1,00 ± 0,00), con diferencias significativas entre animales tratados o no dentro del lote subnutrido ($P < 0,05$). Las ovejas tratadas presentaron una superior prolificidad (M: 1,50 ± 0,14; C: 1,09 ± 0,09; $P < 0,05$), independientemente del plano de alimentación (A: 1,33 ± 0,14; B: 1,31 ± 0,13), dando lugar a un 75% más de corderos nacidos en el lote tratado (M: 1,00 ± 0,18; C: 0,57 ± 0,13; $P < 0,1$). En conclusión, el aumento en la producción de corderos experimentado por los animales tratados con melatonina puede venir mediado en parte por un incremento de la tasa de ovulación, siendo este hecho especialmente detectable en los animales subnutridos.

Palabras clave: Melatonina, Tasa de Ovulación, Ovino.

SUMMARY

EFFECT OF MELATONIN AND PLANE OF NUTRITION ON REPRODUCTIVE PARAMETERS OF RASA ARAGONESA EWES

On March 21, in order to determine the effect of melatonin and plane of nutrition on reproductive parameters of anoestrous Rasa Aragonesa ewes, half of the animals of two groups fed 1.2 (high group, A, n = 20) or 0.5 (low group, B, n = 22) times the maintenance requirements were implanted (treated group, M, n = 21) or not (control group, C, n = 21) with a subcutaneous implant of melatonin. Thus, the experiment was designed as a 2 x 2 factorial (AM, n = 10; BM, n = 11; AC, n = 10; BC, n = 11). Rams were introduced in the flock on May 5, 45 days after implantations. There were no significant differences either for percentage of oestrous ewes or fertility rate, although the effect of melatonin on ovulation rate was significant ($P < 0.01$), with a trend for the effect of plane of

nutrition ($P < 0.1$) (AM: 1.89 ± 0.26; AC: 1.33 ± 0.17; BM: 1.50 ± 0.17; BC: 1.00 ± 0.00 corpora lutea). Melatonin-treated ewes had a higher litter size (M: 1.50 ± 0.14; C: 1.09 ± 0.09; $P < 0.05$), independently of plane of intake (A: 1.33 ± 0.14; B: 1.31 ± 0.13), giving rise to 75% extra lambs born per treated ewe in comparison with control animals (M: 1.00 ± 0.18; C: 0.57 ± 0.13; $P < 0.1$). In conclusion, the improved lamb production presented by melatonin-treated animals can be mediated, in part, by an improvement of ovulation rate, especially in underfed ewes.

Key words: Melatonin, Ovulation rate, Sheep.

Introducción

La estacionalidad sexual limita en gran medida la productividad de especies como la ovina, cuya reproducción viene regulada principalmente por el fotoperiodo (YEATES, 1949). En esta especie, el sistema neuroendocrino recibe la información del fotoperiodo reinante por un ritmo circadiano de secreción de melatonina liberada desde la glándula pineal (BITTMAN *et al.*, 1983). Por ello, la administración de melatonina ha sido utilizada con el fin de avanzar la época de actividad sexual en las ovejas (KOUMITZIS *et al.*, 1989; MCMILLAN and SEALEY, 1989; HARESIGN *et al.*, 1990).

El uso comercial de melatonina para controlar la actividad reproductiva del ganado ovino fue autorizado en España en 2000. La vía de aplicación de esta hormona es la subcutánea, en forma de miniimplantes, que en nuestro país tienen el nombre comercial de Melovine® (CEVA Salud Animal, S.A., Barcelona). El protocolo comercial recomendado es la colocación de los implantes en las ovejas, previamente separadas de los moruecos –cuyo tratamiento con melatonina también se recomienda, 5-6 días antes–, y la introducción de los machos 35-40 días después, permaneciendo con las ovejas unos 35 días, es decir, un manejo similar a un efecto macho. Ciertos resultados obtenidos utilizando melatonina en algunas razas explotadas en nuestro país han sido objeto de revisión (FORCADA *et al.*, 2000; ABECIA *et al.*, 2002a), mostrando que en la mayoría de los casos las ovejas tratadas presentan alrededor de un 30% más de corderos nacidos que las ovejas control, siendo este dato la suma de una superior fertilidad y en algunos casos también una superior prolificidad. Otros autores han observado también este hecho (HARESIGN *et al.*, 1990; CHEMINEAU *et al.*, 1991). Como ya ha sido confirmado con anterioridad, dicho aumento de la prolificidad podría ser resultado de un aumento de la tasa de ovulación (FORCADA *et al.*, 1995, 2002; RONDÓN *et al.*, 1996), un incremento de la supervivencia embrionaria (DUROTOYE *et al.*, 1985), o una mejora de la funcionalidad luteal (ABECIA *et al.*, 2002b).

Por otro lado, se ha descrito un efecto de la nutrición sobre la respuesta a los tratamientos con melatonina (ROBINSON *et al.*, 1991), que se refleja fundamentalmente en la tasa de ovulación. En particular, y en nuestras razas mediterráneas, se ha observado una mejora de este parámetro en ovejas subnutridas o en una baja condición corporal (FORCADA *et al.*, 1995; RONDÓN *et al.*, 1996).

Por todo ello, el objetivo del presente trabajo ha sido determinar el efecto del tratamiento con melatonina, en combinación con

un plano alto o bajo de alimentación, sobre los parámetros reproductivos de ovejas anoéstricas de raza Rasa Aragonesa implantadas al inicio de la primavera.

Material y métodos

Este trabajo se ha realizado en el Servicio de Apoyo a la Experimentación Animal de la Universidad de Zaragoza, instalación registrada en la Unión Europea como Centro Adecuado para Prácticas Experimentales.

Diseño experimental

Se utilizaron un total de 42 ovejas adultas de raza Rasa Aragonesa, con un peso vivo (PV) medio (± S.E.) de 61,4 ± 2,8 kg y una condición corporal (CC) (RUSSEL *et al.*, 1969) de 3,18 ± 0,15, aisladas previamente de los machos durante al menos tres meses. El 21 de marzo los animales se dividieron en dos lotes, que fueron alimentados separadamente con objeto de cubrir 1,2 (lote alto, A, n = 20) ó 0,5 (lote bajo, B, n = 22) veces las necesidades de mantenimiento. Las dietas ofertadas se componían de 450 g de cebada y 800 g de paja por oveja y día (lote A, 10 MJ energía metabolizable) ó 100 g de cebada y 500 g de paja (lote B, 3,9 MJ energía metabolizable). Además, se colocó un implante subcutáneo en la base de la oreja conteniendo 18 mg de melatonina (Melovine, CEVA Salud Animal, Barcelona) en la mitad de las ovejas de cada grupo de alimentación (lote tratado, M, n = 21), quedando el resto de los animales como testigo (lote control, C, n = 21). De esta manera, la experiencia quedó como un diseño factorial 2 x 2, en función del plano de alimentación recibido y del tratamiento o no con melatonina (AM, n = 10; BM, n = 11; AC, n = 10; BC, n = 11).

Con el fin de determinar el porcentaje de actividad ovárica en el momento de colocar los implantes, se tomaron muestras de sangre el 21 y el 28 de marzo, analizándose las concentraciones plasmáticas de progesterona. Se utilizó un nivel mínimo de 0,5 ng de progesterona/ml para considerar una oveja como cíclica. Además, para comprobar la efectividad de los implantes de melatonina en los animales tratados, se extrajeron seis muestras de sangre, cuatro nocturnas (00.00, 01.00, 02.00 y 03.00 h) y dos diurnas (10.00 y 14.00 h), a los 30 días de su colocación (21 abril), ipsilateralmente a su lugar de implantación, analizándonse la concentración de melatonina plasmática. Las muestras nocturnas se recogieron bajo luz roja, con una intensidad inferior a 3 lx.

El 5 de mayo, 45 después de la colocación de los implantes y del inicio de los tratamientos alimenticios, se introdujeron en el rebaño 10 machos con el objeto de provocar un efecto macho. Se observó diariamente la manifestación de celos en las ovejas con objeto de determinar la tasa de ovulación por laparoscopia a los seis días de cada celo. Los machos permanecieron con las ovejas durante 40 días. Se controlaron los pesos vivos y las condiciones corporales al colocar los implantes, al introducir los machos y al final del periodo de cubriciones. A partir de ese momento, los animales fueron alimentados según necesidades hasta los partos (mantenimiento-gestación).

Los criterios aplicados con el fin de conocer el efecto de la melatonina y del plano de alimentación sobre los parámetros reproductivos fueron: i) tasa de ovulación del primer celo detectado por los machos; ii) porcentaje de fertilidad, definido como la proporción de ovejas gestantes en cada grupo; iii) prolificidad, o número de corderos nacidos por parto, y iv) fecundidad, definido como el número de corderos nacidos por oveja del lote.

Análisis hormonales

Las concentraciones plasmáticas de progesterona se determinaron utilizando kits comerciales de RIA (CIS bio international, Gif-sur-Yvette, Francia), basados en tubos cubiertos con anticuerpos, progesterona marcada con ^{125}I y antisuero de conejo. Todas las muestras se analizaron en un único ensayo. La sensibilidad mínima fue de 0.05 ng de progesterona/ml, obteniéndose un coeficiente de variación del 2,5%.

Los niveles plasmáticos de melatonina se determinaron mediante RIA, en duplicado, en un único análisis, siguiendo la técnica de FRASER *et al.* (1983), con un anticuerpo purificado por primera vez por TILLET *et al.* (1986). La sensibilidad del análisis fue de 4 pg de melatonina/ml (Fluka-63610), con un coeficiente de variación intraensayo del 7%.

Análisis estadístico

El PV, la CC y los parámetros reproductivos se compararon mediante un análisis de varianza factorial 2 x 2, aplicándose el test de Duncan para comparar entre grupos. En ausencia de diferencias, se aplicó un análisis de varianza a una vía para comparar el efecto de la alimentación o de la melatonina por separado.

Resultados

Peso vivo y condición corporal

Los animales del lote B presentaron un descenso significativo ($P < 0,05$) del PV y de la CC durante el periodo en el que se aplicaron las dietas experimentales, mientras que las ovejas del lote A mostraron un ligero cambio de PV e incluso un aumento significativo de su CC (cuadro 1).

Ciclicidad al colocar los implantes

El análisis de los niveles plasmáticos de progesterona en el momento de colocar los implantes reveló una ausencia total de signos de actividad luteal, de tal manera que todas las ovejas pudieron ser consideradas como anoéstricas al inicio de la experiencia.

Niveles plasmáticos de melatonina

Todas las ovejas implantadas mostraron niveles elevados de melatonina 30 días tras la colocación de los implantes, lo que demostró la efectividad de los mismos. La concentración media diurna fue de 441 ± 73 pg/ml y la nocturna de 550 ± 61 pg/ml, sin diferencias significativas entre los grupos alimenticios.

Parámetros reproductivos (cuadro 2)

El intervalo medio entre la aparición del primer celo y la introducción de los machos fue de 15 ± 2 días, sin diferencias significativas entre lotes (AM: 12 ± 2; AC: 16 ± 3; BM: 16 ± 2; BC: 17 ± 3 días). Tan sólo dos ovejas (1 AC y 1 BM) presentaron un retorno en celo dentro de los días en los que éstos se controlaron.

No se detectaron diferencias significativas en el porcentaje de ovejas que presentaron celo ni en el porcentaje de fertilidad, aunque al considerar tan sólo el tratamiento con melatonina, el lote M presentó un 15% más de fertilidad que el lote C (67% vs. 52%, respectivamente). Sin embargo, el

Cuadro 1. Peso vivo (PV) medio (± S.E.) (kg) y condición corporal (CC) media en el momento de colocar los implantes (21 de marzo), al introducir los machos (5 de mayo) y al final del periodo de cubriciones (16 de junio), en ovejas alimentadas para cubrir 1,2 (A) y 0,5 (B) veces las necesidades de mantenimiento, tratadas (M) o no (C) con un implante subcutáneo de melatonina

Table 1. Mean (± s.e.) liveweight (kg) and body condition score at melatonin implantation (March 21), at ram introduction (May 5) and at the end of the mating period (June 16) of ewes fed 1.2 x (A) and 0.5 x (B) maintenance requierements, and treated (M) or not (C) with a subcutaneous implant of melatonin

	PV			
	AM (10)	AC (10)	BM (11)	BC (11)
21 marzo	61,3 ± 3,0	61,3 ± 3,0	61,7 ± 2,6	61,2 ± 3,4
5 mayo	58,7 ± 2,5	57,6 ± 2,5	53,7 ± 2.5	53,0 ± 3.0
16 junio	59.1 ± 2,2[a]	57,9 ± 2,9[a]	50,7 ± 2.4[b]	49,0 ± 2,87[b]
	CC			
	AM (10)	AC (10)	BM (11)	BC (11)
21 marzo	3,15 ± 0,10	3,18 ± 0,16	3,18 ± 0,16	3,18 ± 0,13
5 mayo	3,18 ± 0,09[a]	3,00 ± 0,10[a]	2,77 ± 0,11[b]	2,85 ± 0,08[b]
16 junio	3,35 ± 0,11[a]	3,30 ± 0,22[a]	2,75 ± 0,20[b]	2,83 ± 0,18[b]

Letras diferentes en la misma fila indican diferencias P < 0,05.
( ) número de animales.

Cuadro 2. Parámetros reproductivos de ovejas alimentadas para cubrir 1,2 (A) y 0,5 veces (B) las necesidades de mantenimiento, tratadas (M) o no (C) con un implante subcutáneo de melatonina el 21 de marzo. Media ± S.E.

Table 2. Reproductive parameters of ewes fed 1.2 x (A) and 0.5 x (B) maintenance requierements, and treated (M) or not (C) with a subcutaneous implant of melatonin on March 21. Mean ± s.e.

	AM (10)	AC (10)	BM (11)	BC (11)	Significación Plano	Melat
% celos	100%	91%	91%	70%	NS	NS
Fertilidad	60%	55%	73%	50%	NS	NS
Tasa ovulación	1,89 ± 0.26	1,33 ± 0,17	1,50 ± 0.17a	1,00 ± 0.00b	P < 0,1	P < 0,01
Prolificidad	1,50 ± 0.22	1,17 ± 0,17	1,50 ± 0.19	1,00 ± 0.00	NS	NS
Fecundidad	0,90 ± 0,28	0.64 ± 0,20	1,09 ± 0,25	0,50 ± 0,17	NS	NS

El porcentaje de fertilidad viene expresado en relación al total de animales del grupo.
Letras diferentes en la misma fila indican diferencias P < 0.05.
( ) número de animales.

análisis factorial aplicado mostró un efecto significativo del tratamiento con melatonina sobre la tasa de ovulación ($P < 0,01$), y una tendencia a la significación para el efecto del plano de alimentación ($P < 0,1$). El incremento de la tasa de ovulación experimentado por el lote BM fue significativo, en comparación con sus compañeras de alimentación BC ($P < 0,05$).

En relación con la prolificidad, no se observaron diferencias entre lotes tras el análisis factorial, aunque la comparación entre los lotes M y C dio lugar a un superior número de corderos nacidos por parto en los animales tratados con melatonina en comparación con el lote control (M: 1,50 ± 0,14; C: 1,09 ± 0,09 corderos nacidos por parto; $P < 0,05$), independientemente del plano de alimentación (A: 1,33 ± 0,14; B: 1,31 ± 0,13).

En cuanto a la fecundidad, las ovejas tratadas con melatonina presentaron un 75% más de corderos nacidos por oveja que el lote control, con una tendencia a la significación (M: 1,00 ± 0,18; C: 0,57 ± 0,13 corderos nacidos por oveja: $P < 0,1$) El incremento experimentado por las ovejas tratadas dentro del grupo subnutrido fue de un 118% más de nacimientos de corderos comparado con el lote control. No se observó efecto de la alimentación sobre este parámetro (A: 0,76 ± 0,17; B: 0,81 ± 0,16 corderos nacidos por oveja).

Discusión

En primer lugar, destaca la ausencia total de actividad sexual en las ovejas utilizadas en el presente ensayo. Si bien este mismo grupo ha descrito un porcentaje de ciclicidad cercano al 40% en la misma raza, latitud y mes del año (FORCADA *et al.*, 1992), esas ovejas se encontraban expuestas permanentemente a la presencia de los machos, lo que no sucedió en las condiciones de este experimento. De hecho, en un reciente estudio de campo utilizando ovejas de raza Rasa Aragonesa, en el mismo año en el que se desarrolló el trabajo que aquí se describe, y en ausencia total de machos antes del inicio de las cubriciones, se registró un porcentaje de ciclicidad sensiblemente inferior (25%; FORCADA *et al.*, 2002).

El efecto más notable observado en el presente experimento fue la mejora de la tasa de ovulación presentada por los animales tratados con melatonina, siendo este hecho especialmente evidente en los animales subnutridos, que experimentaron una pérdida significativa de PV y CC. La tasa de ovulación media alcanzada por los distintos grupos experimentales es comparable con la observada por FORCADA *et al.* (1992), en la raza Rasa Aragonesa y en la misma explotación. Así, los animales tratados con melatonina y sometidos al plano alto de alimentación presentaron una tasa de ovulación similar a animales con una CC moderadamente alta en plena época de actividad sexual; del mismo modo, los animales no implantados presentaron unos niveles propios del anoestro, teniendo, por fin, las ovejas del lote BM una tasa de ovulación intermedia, propia del inicio de la época de actividad sexual.

No se detectaron diferencias en el porcentaje de fertilidad, aunque en experimentos anteriores, con un mayor número de efectivos en cada lote, similares diferencias porcentuales sí dieron lugar a significación estadística (ABECIA *et al.*, 2002a).

En la raza Salz, genotipo formado por un 50% de Rasa Aragonesa, FORCADA *et al.* (1995) observaron una interacción significativa entre el plano de alimentación y el trata-

miento con melatonina para la tasa de ovulación, siendo el incremento causado por la hormona más pronunciado en las ovejas subnutridas. Similares resultados, siguiendo una pauta de administración oral, han sido descritos por ROBINSON *et al.* (1991). Existen algunas evidencias sobre un efecto directo de la melatonina a nivel ovárico. Por ejemplo, se ha demostrado la presencia de receptores de melatonina en las células de la granulosa (YIE *et al.*, 1995). Además, se ha observado un incremento significativo en la secreción de progesterona inmediatamente después de la administración de melatonina por vía intravenosa (ABECIA *et al.*, 2002b), habiéndose observado una tendencia por parte del tejido luteal a incrementar la secreción de progesterona in vitro en presencia de melatonina en el medio de cultivo, sobre todo en muestras tomadas de animales subnutridos (ABECIA *et al.*, 1999). Sin embargo, el mecanismo por el cual la melatonina es capaz de aumentar la tasa de ovulación, ya sea a través de una alteración de los mecanismos de crecimiento folicular o de su atresia, no ha sido todavía descrito.

La prolificidad alcanzada por las ovejas tratadas con melatonina, independientemente del plano de alimentación recibido, fue significativamente superior que las ovejas del lote control. Este hecho viene a confirmar resultados obtenidos utilizando la misma raza y en la misma latitud (FORCADA *et al.*, 2002; ABECIA *et al.*, 2002a). Esta mayor prolificidad puede ser consecuencia de la superior tasa de ovulación demostrada en el presente trabajo, además de la posible existencia de un efecto de la melatonina sobre la supervivencia embrionaria. De hecho, se ha confirmado una mejora del desarrollo de embriones ovinos in vitro cuando éstos son cultivados en presencia de melatonina (ABECIA *et al.*, 2002b), además de un incremento en la secreción de $PGF_{2\alpha}$, responsable de iniciar los mecanismos luteolíticos, por parte de tejido endometrial, especialmente en ovejas subnutridas (ABECIA *et al.*, 1999).

En conclusión, y sin descartar un posible efecto de la melatonina a nivel uterino, el aumento en la producción de corderos experimentada por animales anoéstricos tratados con melatonina puede venir mediada por un incremento de la tasa de ovulación, siendo este hecho especialmente detectable en los animales subnutridos.

Agradecimientos

Trabajo realizado con la ayuda financiera de la C.I.C.Y.T. (Proyecto AGF98-0575). Los autores expresan su agradecimiento al Dr Alex Martino (CEVA Salud Animal) por la cesión de los implantes de melatonina.

Bibliografía

ABECIA J.A., LOZANO J.M., FORCADA F., 1999. A preliminary study on the effects of dietary energy and melatonin on the ex vivo production of progesterone and prostaglandin $F_{2\alpha}$ by the corpora lutea and endometrial tissue of ewes. Vet. Res. Comm., 23: 115-121.

ABECIA J.A., FORCADA F., MARTINO A., ZÚÑIGA O., VALARES J.A., FERRER L.M., 2002a. Posibilidades del uso de melatonina exogena en España. Albeitar, 52: 30-31.

ABECIA J.A., FORCADA F., ZÚÑIGA O., 2002b. The effect of melatonin on the secretion of progesterone in sheep and on the development of ovine embryos in vitro. Vet. Res. Comm., en prensa.

BITTMAN E.L., KARSCH F.J., HOPKINS J.W., 1983. Role of the pineal gland in ovine photoperiodism: Regulation of seasonal breeding and negative feedback

effects of estradiol upon luteinizing hormone secretion. Endocrinology, 113: 329-336.

CHEMINEAU P., VANDAELE E., BRICE G., JARDON C., 1991. Utilisation des implants de mélatonine pour l'amélioration des performances de reproduction chez la brebis. Rec. Méd. Vét., 167: 227-239.

DUROTOYE L.A., ARGO C.M., MCNEIL M.E., GRAHAM N.B., RODWAY R.G., 1985. Early lambing and increased lambing percentage with slow-release hydrogel melatonin implants. J. Reprod. Fertil., Abst. Series, 1. 83.

FORCADA F., ABECIA J.A., SIERRA I., 1992. Seasonal changes in oestrous activity and ovulation rate in Rasa Aragonesa ewes maintained at two different body condition levels. Small Rum. Res., 8: 313-324.

FORCADA F., ZARAZAGA L., ABECIA J.A., 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 anoestrus. Theriogenology, 43: 1179-1193.

FORCADA F., ABECIA J.A., ZÚÑIGA O., MARTINO A., 2000. Posibilidades de aplicación práctica de la melatonina en el control de la actividad reproductora del ganado ovino. OVIS, 71: 65-86.

FORCADA F., ABECIA J.A., ZÚÑIGA O., LOZANO, J.M., 2002. Variation in the ability of melatonin implants inserted at two different times after the winter solstice to restore reproductive activity in reduced seasonality ewes. Aust. J. Agric. Res., 53: 167-173.

FRASER S., COWEN P., FRANKLIN M., FRANEY C., ARENDT J., 1983. Direct radioimmunoassay for melatonin in plasma. Clin. Chem., 29: 396-397.

HARESIGN W., PETERS A.R., STAPLES L.D., 1990. The effect of melatonin implants on breeding activity and litter size in commercial sheep flocks in the UK. Anim. Prod., 50: 111-121.

KOUMITZIS S.A. BELIBASAKI S., DONEY J.M., 1989. Melatonin advances and condenses the onset of seasonal breeding in Greek dairy ewes. Anim. Prod., 48: 399-405.

MCMILLAN W.H., SEALEY R.C., 1989. Do melatonin implants influence the breeding season in Coopworth ewes? Proc. NZ Soc. Anim. Prod., 49: 43-46.

ROBINSON J.J., WIGZELL S., AITKEN R.P., WALLACE J.M., IRELAND S., ROBERTSON I.S., 1991. The modifying effects of melatonin, ram exposure and plane of nutrition on the onset of ovarian activity, ovulation rate and the endocrine status of ewes. Anim. Reprod. Sci., 26: 73-91.

RONDÓN Z., FORCADA F., ZARAZAGA L., ABECIA J.A., LOZANO J.M., 1996. Oestrus activity, ovulation rate and plasma melatonin concentrations in Rasa Aragonesa ewes maintained at two different and constant body condition score levels and implanted or reimplanted with melatonin. Anim. Reprod. Sci., 41: 225-236.

RUSSEL A.J.F., DONEY J.M., GUNN R.G., 1969. Subjective assessment of body fat in live sheep. J. Agric. Sci., Camb., 72: 451-454.

TILLET, Y., RAVAULT J.P., SELVE C., EVING G., CASTRO B., DUBOIS M.P., 1986. Conditions d'utilisation d'anticorps spécifiques pour la visualisation immunohistochimique de la sérotonine et de la melatonine das la glande pinéale du mouton. Comptes Rendus Acad. Sci. Paris, 303: 77-82.

YEATES N.T.M., 1949. The breeding season of the sheep with particular reference to its modification by artificial means using light. J. Agric. Sci., 39: 1-43.

YIE S.M., NILES L.P., YOUNGLAI E.V., 1995. Melatonin receptors on human granulosa cell embranes. J. Clinic. Endocri. Metabol., 80: 1747-1749.

(Aceptado para su publicación el 30 de mayo de 2002)