



Interação da sazonalidade e nutrição na viabilidade embrionária ovina

Interaction between seasonality and nutrition on embryo viability of ovines

María Isabel Vázquez

Unidad Académica de Reproducción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Libertad, SJ, Uruguay. Instituto de Ciencias Veterinarias, INCIVET, Río Cuarto, Cba., Argentina

Resumo

A sazonalidade reprodutiva e a condição nutricional são os principais fatores que influenciam o desempenho reprodutivo em ovinos, principalmente em áreas onde a disponibilidade de alimentos é altamente sazonal. A desnutrição pode comprometer a competência foliculo-ocitária, a função lútea e o desenvolvimento embrionário. Por outro lado, o tratamento com melatonina é um método eficaz para induzir ciclicidade, aumentando a ovulação e melhorando a viabilidade do embrião durante o anestro. Portanto, levantamos a hipótese de que a melatonina pode substituir os efeitos prejudiciais da desnutrição para melhorar o desempenho reprodutivo em ovelhas. A este respeito, esta revisão enfoca os efeitos da interação entre melatonina e nutrição na viabilidade do embrião e resume a informação disponível sobre o efeito da melatonina exógena na viabilidade do embrião em ovelhas desnutridas.

Palabra-Chave: melatonina, embrión, oveja

Abstract

Reproductive seasonality and nutritional condition are the main factors that influence reproductive performance in sheep, particularly in the areas where the availability of food is highly seasonal. Undernutrition can compromise follicle-oocyte competence, luteal function and embryo development. On the other hand, melatonin treatment is an effective method for inducing estrous cycles, increasing ovulation and improving embryo viability during anestrus. Therefore, we hypothesized that melatonin can override the detrimental effects of undernutrition to improve reproductive performance in ewes. In this regard, this review focuses on the effects of the interaction between melatonin and nutrition on embryo viability and summarizes the available information about the effect of exogenous melatonin on embryo viability in undernourished ewes.

Keywords: melatonin, embryo, ewe

Introducción

Es sabido que varios factores externos e internos influyen sobre la productividad del ganado ovino, de los cuales los dos más importantes parecen ser la estacionalidad reproductiva y la nutrición. Ambos factores afectan directamente a la viabilidad embrionaria y en consecuencia influyen también sobre la eficiencia de la reproducción en los sistemas de explotación ovina.

Efectos del fotoperiodo

El fotoperiodo es el principal factor regulador de la estacionalidad reproductiva en las ovejas, siendo sus efectos más intensos a medida que nos alejamos del Ecuador hacia latitudes más altas, ya sea norte o sur (Karsch et al., 1984). El traductor endógeno de la información fotoperiódica es la melatonina, hormona que es liberada por la glándula pineal como respuesta a la percepción de horas de oscuridad y que actúa a nivel de hipotálamo para modular la secreción pulsátil de GnRH (Karsch et al., 1984; Robinson, 1996). El conocimiento de los efectos de la melatonina sobre el hipotálamo y su función principal como mediadora endocrina de la regulación de la estacionalidad en las ovejas (Chemineau et al., 1996), ha permitido el desarrollo de nuevas técnicas para mejorar el control de la reproducción, como por ejemplo el uso de implantes subcutáneos de melatonina exógena a fin de lograr adelantar la estación reproductiva y mejorar la eficiencia reproductiva durante el anestro tanto en ovejas de estacionalidad muy marcada (Haresign et al., 1990), como en ovejas de razas Mediterráneas (Chemineau et al., 1996; Zuñiga et al., 2002;



Abecia et al., 2007). Los implantes subcutáneos de melatonina inducen altos niveles plasmáticos de la hormona durante las 24 horas del día, pero sin suprimir la secreción endógena de melatonina (O'Callaghan et al., 1991; Malpaux et al., 1997), siendo eficaces desde los 70 días tras la colocación (Forcada y Abecia, 2006).

En general, los tratamientos con melatonina exógena aumentan la fertilidad y prolificidad en las ovejas (Forcada et al., 1995; Chemineau et al., 1996; Zuñiga et al., 2002; Abecia et al., 2007). Asimismo, se ha comprobado que es un método efectivo para inducir ciclicidad y para aumentar la tasa de ovulación (Forcada et al., 1995; Zuñiga et al., 2002; Luther et al., 2005). Este efecto se basa en que dicha hormona aumenta el número de folículos ovulatorios debido a una disminución en el proceso de atresia de los folículos pequeños y medianos presentes en la onda folicular previa a la ovulación (Bister et al., 1999; Noël et al., 1999). Parece ser que la melatonina es capaz de modular el crecimiento folicular sin influir en la secreción de hormona FSH (Noël et al., 1999), tal vez debido a la capacidad de estimular la esteroidogénesis a través de una acción directa sobre el ovario (Fiske et al., 1984). En este sentido, distintas referencias destacan el efecto luteotrófico de la melatonina, que ha sido evidenciado tanto *in vivo* (Wallace et al., 1988; Durotoye et al., 1997) como *in vitro* (Abecia et al., 2002), reforzando el papel positivo en el establecimiento de la gestación, ya que está claro que los niveles de progesterona (P4) durante las primeras semanas posteriores a la fecundación son esenciales para la supervivencia e implantación del embrión (Abecia et al., 2019).

Por otro lado, los efectos a nivel del embrión son contradictorios. Si bien algunos autores, trabajando con ovulación normal o con superovulación, no encontraron diferencias en la viabilidad de los embriones recuperados en anestro o en la estación reproductiva (López-Sebastián et al., 1990; González-Bulnes et al., 2003), Mitchell et al. (2002) observaron que la viabilidad y las características morfológicas de los embriones fueron mejores cuando éstos se recuperaban al inicio de la estación reproductiva que al final de la misma. Además, Abecia et al. (2002) demostraron que la melatonina añadida al medio de cultivo favoreció la viabilidad *in vitro* de embriones descongelados. Sin embargo, hasta el presente, los mecanismos específicos por los cuales la melatonina actúa sobre la viabilidad embrionaria no han sido totalmente dilucidados.

Efectos de la nutrición

Como ha sido mencionado previamente, la nutrición es uno de los principales factores que afectan la supervivencia embrionaria en los rumiantes. La compleja relación existente entre la nutrición y sus efectos sobre la reproducción ha sido objeto de numerosos estudios (Schillo, 1992; Rhind, 1992; Chilliard et al., 1998; O'Callaghan y Boland, 1999; Scaramuzzi et al., 2006); aunque uno de los aspectos más estudiados de esa relación ha sido el efecto de la sobrealimentación o suplementación (flushing), como herramienta para incrementar la tasa de ovulación (Rhind, 1992), también existe documentación que avala el efecto de la subnutrición sobre el eje hipotálamo-hipofiso-gonadal en los rumiantes (Robinson, 1996; Boland et al., 2001; Forcada y Abecia, 2006; Abecia et al., 2019). Al respecto, se ha observado que ovejas subnutridas, a largo y a corto plazo, presentaron una disminución de las concentraciones de FSH y LH, así como también una disminución en la frecuencia de pulsos de LH (O'Callaghan et al., 2000). Algunos trabajos han encontrado una menor tasa de ovulación en ovejas subnutridas (McNeilly et al., 1987; Rhind et al., 1989a), mientras que otros autores no han encontrado diferencias (Lozano et al., 2003; Kakar et al., 2005; Vázquez et al., 2010; Vázquez et al., 2017).

La subnutrición es uno de los problemas que se presenta con mayor frecuencia en los rebaños ovinos, debido a que el esquema nutricional de los sistemas extensivos está basado en el pastoreo, con lo cual la disponibilidad de alimento es muy fluctuante a lo largo del año (Lindsay et al., 1993). Los mecanismos que deben llevarse a cabo para el establecimiento de la gestación son esenciales para la supervivencia del embrión (Robinson, 1996), y la subnutrición afecta estos mecanismos aumentando la mortalidad embrionaria y disminuyendo las tasas de preñez (Rhind et al. 1989a, Abecia et al., 2002; Lozano et al., 2003), principalmente debido a una inadecuada calidad del ovocito o del desarrollo temprano del embrión; así como también afectando el ambiente uterino y el sistema de reconocimiento materno de la gestación (Abecia et al., 2019).

Otro importante aspecto a evaluar es la función luteal en el ovario. Al respecto se ha observado que, en ovinos existe una relación inversa entre el nivel nutricional y las concentraciones plasmáticas de P4 (Parr, 1992; Rhind et al., 1992; Lozano et al., 1998; O'Callaghan et al., 2000). Sin embargo, la producción *in vitro* de P4 por el cuerpo lúteo (CL) no estuvo afectada por la subnutrición (Abecia et al., 2002), lo cual indicaría que los mayores niveles de P4 no se deben a un aumento en su síntesis. Parr (1992) propuso que



este fenómeno podría deberse a una menor metabolización hepática de la hormona en animales subnutridos. De esta manera, Rhind et al. (1989) sugirieron que la medición de la hormona a nivel local daría un mejor reflejo de la situación, y podría explicar los hallazgos de que animales subnutridos con mayores niveles plasmáticos de P4 presentaban mayor tasa de mortalidad embrionaria. En este sentido, se observó que, las ovejas subnutridas tienen similares niveles de P4 en la vena ovárica y en la arteria uterina que ovejas controles (Abecia et al., 2002; Lozano et al., 1998), aunque Lozano et al. (1998) el día 5 del ciclo estral observaron menores concentraciones de P4 en el tejido endometrial de ovejas subnutridas respecto a los controles, lo cual podría explicar el desarrollo embrionario inadecuado en ovejas subnutridas.

Los estudios que investigan los efectos directos de la subnutrición sobre el desarrollo embrionario son relativamente escasos. En ovinos, se ha demostrado que 25 días de subnutrición aumentan la mortalidad de los embriones con 11 días de gestación (Rhind et al., 1989a). Otros trabajos, con condiciones nutricionales comparables, han reportado un porcentaje de embriones recuperados similar en ovejas subnutridas y controles los días 4, 8 y 9, aunque los embriones de las ovejas subnutridas presentaban un retraso en su desarrollo (Abecia et al., 2006; Lozano et al., 2003). Además, se encontraron diferencias en las tasas de gestación debidas a la subnutrición durante los días 14 y 15, pero no en los días 8 y 9 de gestación (Abecia et al., 2019).

El estado metabólico de un animal puede definirse como la cantidad de energía disponible en los tejidos en un momento dado y depende por tanto de la diferencia entre la cantidad de la energía disponible y la cantidad de energía utilizada. La cantidad de energía disponible incluye la energía derivada de la nutrición y también, la energía almacenada en los tejidos corporales, especialmente el tejido adiposo, el cual es un sistema de almacenamiento altamente eficiente (Blache et al., 2006). Las respuestas metabólicas a los cambios en el estado metabólico pueden depender de la historia metabólica reciente (alimentación, efecto dinámico) o lejano (condición corporal-CC, efecto estático), concepto denominado memoria metabólica (Chilliard et al., 2005; Blache et al., 2006; Fernández-Foren et al., 2011). En ovinos se ha visto una fuerte correlación negativa entre los niveles plasmáticos de progesterona periférica y el nivel de ingestión (Parr et al., 1992; Rhind et al., 1989). Este hecho parecería contrastar con las menores tasas de preñez asociadas a la subnutrición (Abecia et al., 2006), lo que sugiere que la llegada de la hormona al útero puede no estar reflejada por sus concentraciones circulantes. Por esto es más probable que los efectos de los cambios en el estado metabólico sobre la gestación sean ejercidos por una señalización diferencial de las hormonas metabólicas, más que por una insuficiencia de nutrientes “per se” (Sosa et al., 2009; de Brun, 2014). Las respuestas endócrinas y metabólicas, durante la subnutrición, ante todo buscan mantener la homeostasis durante ciertos límites, dándose numerosos cambios en las concentraciones hormonales y en su sensibilidad tisular (Chilliard et al., 1998).

Efectos de la interacción melatonina y nutrición sobre la viabilidad embrionaria

Como hemos descrito, la subnutrición disminuye la sobrevida embrionaria y reduce las tasas de preñez en ovejas, debido a que afecta la calidad del ovocito y/o el desarrollo temprano del embrión (Forcada y Abecia, 2006; Abecia et al., 2019), por eso, parecería lógico pensar que la melatonina podría ser una herramienta útil para revertir o aliviar los efectos adversos de la subnutrición sobre la viabilidad embrionaria. En una serie de experimentos diseñados para determinar los efectos de la interacción entre melatonina y subnutrición, durante la estación reproductiva y el anestro estacional, las ovejas recibieron servicio y embriones fueron colectados; así como también los ovarios para ser utilizados en producción *in vitro* (PIV) (Vázquez et al., 2009; 2010a; 2010b). Las principales conclusiones fueron que la melatonina mejoró la calidad embrionaria durante el anestro, especialmente en las ovejas posparto subnutridas, donde hubo un aumento significativo en el número de embriones viables y la tasa de viabilidad embrionaria (Vázquez et al., 2010a). Por otro lado, en la competencia ovocitaria durante PIV, no hubo influencia ni de la nutrición ni del tratamiento con melatonina (Vázquez et al., 2009, 2010a). Sin embargo, estuvo afectada por la estación del año, ya que la melatonina mejoró la competencia para el desarrollo *in vitro* durante el anestro estacional, especialmente en los ovocitos provenientes de las ovejas subnutridas (Vázquez et al., 2010b). El uso de implantes de melatonina al parto, durante la estación reproductiva, mejoró la viabilidad de los embriones recuperados de ovejas subnutridas (Vázquez et al., 2013). En Argentina, el uso de implantes de melatonina, en ovejas mestizas, aumentó la tasa de ovulación en ovejas subnutridas (L-MEL: 33%; L+MEL: 67%; $P < 0.01$), aunque no hubo efecto sobre las tasas de preñez entre los grupos experimentales. Además, solamente las ovejas implantadas con melatonina fueron capaces de tener una ovulación natural espontánea después de la inducción de celo en el anestro, lo que en consecuencia, aumentó las tasas finales de preñez en los grupos implantados con melatonina (C: 50%, C+MEL: 83%, L:



50%, L+MEL: 67%; $P < 0.01$). En conclusión, ese estudio demostró que la melatonina mejoró el reinicio de la actividad cíclica durante el anestro, particularmente en las ovejas subnutridas (Chaves et al., 2017). Resultados semejantes fueron observados con la utilización de la melatonina exógena en ovejas de baja CC (menor a 2,5 puntos-escala 1 a 5) durante el anestro estacional que favoreció la ovulación y el reinicio de la actividad ovárica, aunque no impactó en la preñez (Sarracini et al., 2020; Franco et al., 2022; Sarracini et al., 2022).

Todos estos resultados sugieren que los mecanismos que regulan la interacción melatonina y nutrición sobre la viabilidad embrionaria están regulados estacionalmente, aunque más estudios son necesarios para lograr un mejor entendimiento de los mecanismos reguladores y/o moduladores de esta interacción, lo que será esencial para el desarrollo de medidas de manejo que impacten en la eficiencia reproductiva de los sistemas productivos ovinos.

Agradecimientos

A todo el equipo de trabajo del Dpto. de Reproducción Animal, FAV, UNRC, Argentina, por mantenerse siempre motivados y dispuestos a colaborar en los trabajos experimentales. Al M.V. D. Bovetti por la donación de las ovejas utilizadas en Argentina. A los Dres F. Zandonadi Brandao y R. Ungerfeld por la confianza y la invitación a compartir nuestro trabajo en esta edición CBRA.

Referencias

- Abecia JA, Forcada F, Zuñiga O.** The effect of melatonin on the secretion of progesterone in sheep and on the development of ovine embryos in vitro. *Vet. Res. Commun.* 26, 151-158, 2002.
- Abecia JA, Valares JA, Forcada F, Palacin I, Martín S, Martino A.** The effect of melatonin on the reproductive performance of three sheep breeds in Spain. *Small Ruminant Research* 69, 10-16, 2007.
- Abecia JA, Forcada F, Vázquez MI, Muñio-Banco T, Cebrián-Perez JA, Perez-Pe, R, Casao A.** Role of melatonin on embryo viability in sheep. *Reproduction, Fertility and Development*, 31, pp 82–92, 2019.
- Bister JL, Noël B, Perrad B, Mandiki SNM, Mbayahaga J, Paquay R.** Control of ovarian follicles activity in the ewe. *Domestic Animal Endocrinology*, 17, 315-328, 1999.
- Blache D, Zhang S, Martín GB.** Dynamic and integrative aspects of the regulation of reproduction by metabolic status in male sheep. *Reprod Nutr Dev*, 46, 379–390, 2006.
- Boland MP, Lonergan P, O’Callaghan D.** Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, and oocyte and embryo development. *Theriogenology*, 55, 1323-1340, 2001.
- Chaves MA, Franco CA, Martínez D, Miazza A, Vázquez MI.** Exogenous melatonin improves resumption of ovarian function in undernourished ewes during anestrus season in Argentina. *Revista Brasileira Reproducao Animal*, 41 (1), p. 473, 2017.
- Chemineau P, Malpoux B, Pelletier J, Leboeuf, B, Delgado JA, Deletang F, Pobel T, Brice G.** 1996. Emploi des implants de mélatonine at des traitements photopériodiques pour maîtriser la reproduction saisonnière chez les ovins et les caprins. *INRA Prod Anim*, 9, 45-60, 1991.
- Chilliard Y, Bocquier F, Doreau M.** Digestive and metabolic adaptations of ruminants to undernutrition, and consequences on reproduction. *Reprod Nutr Dev*, 38, 131-152, 1998.
- Chilliard Y, Delavaud C, Bonnet M.** Leptin expression in ruminants: nutritional and physiological regulations in relation with energy metabolism. *Domest Anim Endocrinol*, 29, 3–22, 2005.
- de Brun V.** Efecto de la subnutrición materna sobre la gestación temprana en ovinos: énfasis endócrino-metabólico. Tesis de Maestría, Facultad de Veterinaria, UdelaR, Uruguay, 58 pp, 2014.
- Durotoye LA, Webley GE, Rodway RG.** Stimulation of the production of progesterone by the corpus luteum of the ewe by the perfusion of melatonin in vivo and by treatment of granulosa cells with melatonin in vitro. *Res Vet Sci*, 62, 87-91, 1997.
- Fernández-Foren A, Abecia JA, Vázquez MI, Forcada F, Sartore I, Carriquiry M, Meikle A, Sosa C.** Restricción alimenticia en ovinos: respuesta endócrino-metabólica dependiente de las reservas corporales. *ITEA*, 170 (4): 257-271, 2011.
- Fiske VM, Parker KL, Ulmer A, Seng HO, Aziz N.** Effects of melatonin alone or in combination with human chorionic gonadotropin or ovine luteinizing hormone on the in vitro secretion of oestrogen or progesterone by granulosa cells of rats. *Endocrinology* 114, 407-410, 1984.
- Forcada F, Zarazaga L, Abecia JA.** 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, (7), 1179-1193, 1995.



- Forcada F, Abecia JA.** The effect of nutrition on the seasonality of reproduction in ewes. *Reprod Nutr Dev*, 46 (4), 355-365, 2006.
- Franco CA, Sarracini D, Martínez D, Masson ME, Boaglio, KA, Vázquez, MI.** Effect of exogenous melatonin on the reproductive performance in ewes with different body condition score during anestrus season. *ISABR*, 2022.
- González-Bulnes A, García-García RM, Santiago-Moreno J, Domínguez V, López-Sebastian A, Cocero MJ.** Reproductive season affects inhibitory effects from large follicles on the response to superovulatory FSH treatments in ewes. *Theriogenology*, 60 (2), 281-288, 2005.
- Haresign W, Peters AR, Staples LD.** The effect of melatonin implants on breeding activity and litter size in commercial sheep flocks in the UK. *Anim Prod*, 50, 111-121, 1990.
- Kakar MA, Maddocks S, Lorimer MF, Kleemann DO, Rudiger SR, Hartwich KM, Walker SK.** The effect of peri-conception nutrition on embryo quality in the superovulated ewe. *Theriogenology* 64, 1090-1103, 2005.
- Karsch FJ, Bittman EL, Foster DL, Goodman RL, Legan SJ, Robinson JE.** Neuroendocrine basis of seasonal reproduction. *Recent Prog Horm Res*, 40, 185-232, 1984.
- Lindsay D, Martin G, Williams I.** Nutrition and reproduction. In: *Reproduction in Domesticated Animals*, Elsevier Science, Amsterdam, pp. 459-491, 1993.
- López-Sebastián A, Cognié Y, Cocero MJ, De La Fuente J, Poulin N.** Effect of season and duration of FSH treatment on embryo production in sheep. *Theriogenology*, 34 (1), 175-180, 1990.
- Lozano JM, Abecia JA, Forcada F, Zarazaga L, Alfaro B.** Effect of undernutrition on the distribution of progesterone in the uterus of ewes during the luteal phase of the estrous cycle. *Theriogenology*, 49, 539-546, 1998.
- Lozano JM, Lonergan P, Boland MP, O'Callaghan D.** Influence of nutrition on the effectiveness of superovulation programmes in ewes: effect on oocyte quality and post-fertilization development. *Reproduction*, 125, 543-553, 2003.
- Luther JS, Redmer DA, Reynolds LP, Choi JT, Pant D, Navanukraw C, Arnold DR, Scheaffer AN, Borowicz P, Kirsch JD, Weigl RM, Kraft KC, Grazul-Bilska AT.** Ovarian follicular development and oocyte quality in anestrus ewes treated with melatonin, a controlled internal drug release (CIDR) device and follicle stimulating hormone. *Theriogenology*, 63, 2136-2146, 2005.
- Malpaux B, Viguie C, Skinner DC, Thiéry JC, Chemineau P.** Control of the circannual rhythm of reproduction by melatonin in the ewe. *Brain Research Bulletin* 44(4), 431-438, 1997.
- McNeilly AS, Jonassen JA, Rhind SM.** Reduced ovarian follicular development as a consequence of low body condition in ewes. *Acta Endocrinol (Copenh)*, 115, 75-83, 1987.
- Mitchell LM, Dingwall WS, Mylneb MJA, Hunton J, Matthews K, Gebbie FE, McCallum GJ, McEvoy TG.** Season affects characteristics of the pre-ovulatory LH surge and embryo viability in superovulated ewes. *Anim Reprod Sci*, 74, 163-174, 2002.
- Noël B, Mandiki SMN, Perrad B, Bister JL, Paquay R.** Terminal follicular growth, ovulation rate and hormonal secretion after melatonin pre-treatment prior to FGA_PMSG synchronisation in Suffolk ewes at the onset of breeding season. *Small Ruminant Res*, 32, 269-277, 1999.
- O'Callaghan D, Karsch FJ, Boland MP, Roche JF.** What photoperiodic signal is provided by a continuous melatonin implant?. *Biol Reprod*, 45, 927-933, 1991.
- O'Callaghan D, Boland MP.** Nutritional effects on ovulation, embryo development and the establishment of pregnancy in ruminants. *Animal Science*, 68, 299-314, 1999.
- O'Callaghan D, Yaakub H, Hyttel P, Spicer LJ, Boland MP.** Effect of nutrition and superovulation on oocyte morphology, follicular fluid composition and systemic hormone concentrations in ewes. *J Reprod Fertil*, 118, 303-313, 2000.
- Parr RA.** Nutrition-progesterone interactions during early pregnancy in sheep. *J Fertil Dev*, 4, 297-300, 1992.
- Rhind SM, Martin GB, Mcmillen S, Tsonis CG, Mcneilly AS.** Effect of level of food intake of ewes on the secretion of LH and FSH and on the pituitary response to gonadotrophin-releasing hormone in ovariectomized ewes. *J Endocrinol*, 121, 325-30, 1989.
- Rhind SM.** Nutrition: its effect on reproductive performance and its control in female sheep and goats. In: *Progress in sheep and goat research*, Ed. Speedy, A.W, CAB International, Wallingford, pp. 25-52, 1992.
- Robinson JJ.** Nutrition and Reproduction. *Anim Reprod Sci*, 42, (1-4), 25-34, 1996.
- Sarracini D, Franco CA, Martínez D, Mondino D, Arias L, Vázquez MI.** La melatonina exógena y la actividad ovárica en ovejas con diferente CC durante el anestro estacional. *Revista Argentina de Producción Animal (RAPA)*, vol 40, supl 1, p 253, 2020.



- Sarracini D, Franco CA, Martínez D, Vázquez MI.** Eficiencia reproductiva de ovejás con diferente condición corporal tratadas con melatonina durante el anestro estacional. *RAPA*, vol 42, 1, 2022.
- Scaramuzzi RJ, Campbell BK, Downing JA, Kendall NR, Khalid M, Munoz- Gutierrez M, Somchit A.** A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. *Reprod Nutr Dev*, 46, 339-54, 2006.
- Schillo KK.** Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. *J. Anim Sci*, 70, 1271-1282, 1992.
- Sosa C, Abecia JA, Carriquiry M, Vázquez MI, Fernández-Foren A, Talmon M, Forcada F, Meikle A.** Effect of undernutrition on the uterine environment during maternal recognition of pregnancy in sheep. *Reprod, Fertility and Development*, 21, 1-13, 2009.
- Vázquez MI, Forcada F, Casao A, Sosa C, Palacín I, Abecia JA.** Effects of melatonin and undernutrition on the viability of ovine embryos during anestrus and the breeding season. *Anim Reprod Sci*, 112, 83-94, 2009.
- Vázquez MI, Forcada F, Casao A, Abecia JA, Sosa C, Palacín I.** Undernutrition and exogenous melatonin can affect the *in vitro* developmental competence of ovine oocytes on a seasonal basis. *Reprod Domest Anim*, 45, 677-684, 2010a.
- Vázquez MI, Abecia JA, Forcada F, Casao A.** Effects of exogenous melatonin on *in vivo* embryo viability and oocyte competence of undernourished ewes after weaning during the seasonal anestrus. *Theriogenology*, 74, 618-626, 2010b.
- Vázquez MI, Forcada F, Sosa C, Casao A, Sartore I, Fernández-Foren A, Meikle A, Abecia JA.** Effect of exogenous melatonin on embryo viability and uterine environment in undernourished ewes. *Anim Reprod Sci*, 141, (1-2), 52-61, 2013.
- Vázquez MI, Chaves MA, Filas J, Martínez D, Díaz M, Torres M.** Effects of exogenous melatonin on resumption of ovarian function in undernourished ewes at Argentina. *Animal Reproduction*, 14, (1), v.14, n.1, p.188, 2017.
- Wallace JM, Robinson JJ, Wigzell S, Aitken RP.** The effect of melatonin on the peripheral concentrations of LH and progesterone postestrus and on conception rate in ewes. *Anim Prod*, 46, p 499, 1988.
- Zuñiga O, Forcada F, Abecia JA.** The effect of melatonin implants on the response to the male effect and on the subsequent cyclicity of Rasa Aragonesa ewes implanted in April. *Anim Reprod Sci*, 72, (3-4), 165-174, 2002.
-