



Facultad de Veterinaria  
Universidad Zaragoza



# Trabajo Fin de Grado en Veterinaria

Uso combinado de melatonina y prostaglandinas para el control reproductivo ovino.

Combination of melatonin and prostaglandins to control sheep reproduction.

Autor/es

José Barbanoj Sillés

Director/es

Alfonso Abecia Martínez

Facultad de Veterinaria

2022

---

# ÍNDICE

<b>ÍNDICE.....</b>	<b>1</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>2</b>
ABSTRACT .....	2
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>4</b>
CICLO SEXUAL DE LAS OVEJAS .....	4
MELATONINA.....	6
EFECTO MACHO .....	10
PROSTAGLANDINA F2 A.....	12
RAZA LACAUNE .....	14
<b>JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS .....</b>	<b>15</b>
<b>METODOLOGÍA.....</b>	<b>15</b>
ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	16
ÍNDICES REPRODUCTIVOS.....	16
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>17</b>
<b>DISCUSIÓN .....</b>	<b>18</b>
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>21</b>
CONCLUSIONS.....	21
<b>VALORACIÓN PERSONAL.....</b>	<b>22</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>23</b>

## RESUMEN

Para estudiar el desempeño reproductivo de las ovejas al realizar tratamientos hormonales, se dividió un rebaño de 500 ovejas de raza Lacaune de carne en cuatro grupos. El 7 de noviembre de 2020, a 150 ovejas se les trató con un único implante de melatonina (M). De estos animales, se escogieron 64 al azar y se les inyectó una dosis de 10 mg de prostaglandina (PG) F2 $\alpha$  a los 34 días tras la implantación con melatonina, es decir, el 11 de diciembre (grupo M+1PGF). Las demás ovejas del grupo M no recibieron ningún tratamiento más aparte de la melatonina. Otro grupo de 75 hembras (grupo 2PGF) fue tratado con PGF $_2$ - $\alpha$  los días 2 y 11 de diciembre de 2020, y 275 ovejas no tratadas (grupo C) fueron el grupo control. Los carneros (n=23) se introdujeron al rebaño el 11 de diciembre.

En la época de partos se registraron los corderos nacidos por parto (prolificidad), y se calculó la fertilidad (% de ovejas paridas) y la fecundidad (número de corderos nacidos por oveja). La fertilidad no difirió entre grupos, mientras que el grupo M+1PGF tuvo una mayor prolificidad media ( $\pm$ SEM) que los grupos 2PGF ( $P<0.05$ ) o C (M: 1,65 $\pm$ 0,07; M+1PGF: 1,74 $\pm$ 0,09; 2PGF: 1,54 $\pm$ 0,08; C: 1,56 $\pm$ 0,04 corderos/cordero), y una fecundidad superior a la de los grupos 2PGF ( $P<0.05$ ) o C (M: 1,30 $\pm$ 0,09; M+1PGF: 1,36 $\pm$ 0,11 2PGF: 1,07 $\pm$ 0,10; C: 1,16 $\pm$ 0,05 corderos/oveja). Las ovejas implantadas con melatonina tuvieron significativamente mayor prolificidad (1,69 $\pm$ 0,06 corderos/parto) y fecundidad (1,33 $\pm$ 0,07 corderos/oveja) que las ovejas que no recibieron melatonina (1,56 $\pm$ 0,04 y 1,14 $\pm$ 0,04, respectivamente). En conclusión, los implantes de melatonina aumentaron el número de corderos nacidos por oveja en la temporada de monta de diciembre, efecto que se potenció administrando una dosis de PGF $_2$ - $\alpha$  a la introducción de los carneros.

## ABSTRACT

To study the reproductive performance of sheep when performing hormonal treatments, a flock of 500 sheep of the Lacaune-meat breed was divided into four groups. On November 7, 2020, 150 sheep were treated with a single melatonin (M) implant. Of these animals, 64 were randomly selected and injected with a dose of 10 mg of prostaglandin (PG) F2 $\alpha$  34 days after implantation with melatonin, that is, on December 11 (group M+1PGF). The other sheep in group M did not receive any treatment other than melatonin.

Another group of 75 females (group 2PGF) was treated with  $\text{PGF}_2\alpha$  on December 2 and 11, 2020, and 275 untreated sheep (group C) were the control group. The rams ( $n=23$ ) were introduced to the flock on December 11.

In the lambing season, the number of lambs born per lambing (prolificacy) was recorded, and fertility (% of ewes lambing) and fecundity (number of lambs born per ewe) were calculated. Fertility did not differ between groups, while the M+1PGF group had a higher mean prolificacy ( $\pm\text{SEM}$ ) than the 2PGF or C groups (M:  $1.65\pm 0.07$ ; M+1PGF:  $1.74\pm 0.09$ ; 2PGF:  $1.54\pm 0.08$ ; C:  $1.56\pm 0.04$  lambs born/ewe lambing), and higher fecundity than groups 2PGF ( $P<0.05$ ) or C (M:  $1.30\pm 0.09$ , M+1PGF:  $1.36\pm 0.11$ , 2PGF:  $1.07\pm 0.10$ , C:  $1.16\pm 0.05$  lambs born/ewe). Ewes implanted with melatonin had significantly higher prolificacy ( $1.69\pm 0.06$  lambs born/lambing) and fecundity ( $1.33\pm 0.07$  lambs born/ewe) than ewes that did not receive melatonin ( $1.56\pm 0.04$  and  $1.14\pm 0.04$ , respectively). In conclusion, melatonin implants increase the number of lambs born per ewe in the December mating season, an effect that is enhanced by administering a dose of  $\text{PGF}_2\alpha$  at the introduction of the rams.

## INTRODUCCIÓN

La especie ovina es un pequeño rumiante cuya reproducción se concentra en una época del año, es decir, presentan una estacionalidad sexual que han conservado pese a la domesticación (Abecia et al., 2012). Esta estrategia reproductiva se da para concentrar los partos en primavera, en la época en la que los recursos naturales son más abundantes y por ello las condiciones más favorables para criar a los corderos (Forcada y Abecia, 2013). Para ello, y puesto que la gestación de las ovejas dura 5 meses, las cubriciones deben darse lugar en otoño-invierno, aunque esta puede comenzar a finales de verano y extenderse hasta el final del invierno o el principio de primavera. Se trata de la época del año en la que los días son más cortos y la noche más larga, por lo que podríamos decir que las ovejas son reproductoras de días cortos (Abecia et al., 2012).

La principal hormona que manda señales al organismo acerca de la longitud de los días es la melatonina, secretada por la glándula pineal (Correa y Fernández, 2017); esta hormona manda señales al eje-hipotálamo-hipófisis-gónadas (HHG) (Abecia et al., 2012) y estos comienzan a secretar las hormonas que favorecen la actividad sexual.

Durante esta época se suceden ciclos estrales de 16,5 a 17,8±0,2 días (Uribe-Velásquez et al., 2009), con una duración de aproximadamente 5 días de la fase folicular y de 15 días de la fase luteal (Driancourt et al., 1985).

Con la finalidad de reducir la estacionalidad de los productos obtenidos y de agrupar el trabajo para aumentar la eficiencia, se intenta inducir los ciclos de los animales en épocas en las que por sí solos no son cíclicos (Abecia et al., 2012). Para ello pueden usarse métodos naturales tales como el efecto macho, u hormonales, como implantes de melatonina, progestágenos y prostaglandinas.

## CICLO SEXUAL DE LAS OVEJAS

El ciclo sexual de las ovejas dura aproximadamente 17 días, y se puede dividir en dos fases: fase folicular y fase luteal. Tomando como punto de referencia el día de estro (día 0), la fase folicular va del día 14 al día 1 y la fase luteal del día 2 al día 13 (Driancourt et al., 1985).

El estro o celo es el momento en el que la hembra acepta ser cubierta por el macho, tiene una duración variable entre 24 y 40 horas y esta es muy diferente según raza, edad y época del año; el pico preovulatorio de la hormona luteinizante (LH) da comienzo a las 2-6 horas tras el comienzo del celo y termina con la ovulación a las 24-32 horas del inicio del estro (Abecia, A., Forcada, F., 2010). La LH se secreta en forma de picos a intervalos diferentes según raza y época

del año (Driancourt et al., 1985), que aumentan paulatinamente las concentraciones de andrógenos y estradiol en la sangre de la vena ovárica (Baird y Scaramuzzi, 1975).

Durante la fase luteal el crecimiento de los folículos se presenta en forma de ondas de crecimiento (variables en número en los diferentes ciclos), lo que significa que durante esta etapa los folículos ováricos experimentan un crecimiento sincrónico en grupo (Uribe-Velásquez et al., 2009). Este crecimiento se da hasta que los folículos presentan un diámetro comprendido entre 4 y 6 mm y posteriormente regresan (Driancourt et al., 1985), a excepción de la última onda de crecimiento, en la que uno o más folículos llegan a ovular y de esta estructura posteriormente se forma el cuerpo lúteo (Abecia y Forcada, 2010). El número de folículos que ovulan depende de la cantidad de folículos dominantes en el momento de la ovulación (Cahill et al., 1979) y el número de ondas de crecimiento que se dan hasta que por fin uno o más folículos ovulan van a determinar la duración de la fase luteal, siendo más larga cuantas más ondas de crecimiento se sucedan en el ovario (Pierson y Ginther, 1986). Estas ondas se dan en los dos ovarios a la vez, aunque en estudios realizados por Scaramuzzi y Downing, (1997) constataron que el ovario derecho presenta normalmente una actividad significativamente mayor que el izquierdo.

En la selección del folículo ovulatorio parece que están involucrados elementos endocrinos, pues la presencia de un folículo grande en un ovario inhibe el crecimiento de otros folículos en el otro ovario, si bien el mecanismo exacto no se conoce con exactitud (Contreras-Solis et al., 2008). Para que se suceda la ovulación, se tiene que dar el pico de LH llamado "preovulatorio" desencadenado por el aumento de la cantidad de estrógenos en el folículo preseleccionado como dominante (Driancourt et al., 1985); este pico de LH se da unas horas después del comienzo del estro, aunque el momento exacto es variable entre las diferentes razas (Cahill et al., 1979).

En esta fase luteal, los niveles de progesterona plasmática secretada por el cuerpo lúteo van aumentando progresivamente hasta el día 7, en el que se estabilizan a unos niveles entre 1-3 ng/ml hasta el día 12 del ciclo (Driancourt et al., 1985). Esta progesterona actúa a nivel del eje hipotálamo-hipófisis-ovario reduciendo la liberación de GnRH y LH de forma directa mediante mecanismos de retroalimentación negativa y además reduce la cantidad de receptores de GnRH en la hipófisis (Abecia y Forcada, 2010). Si no se produce gestación, el ciclo recomienza y se rompe el cuerpo lúteo mediante la  $\text{PGF}_2\text{-}\alpha$ , de lo que se hablará más adelante.

## MELATONINA

La melatonina es una indolamina descubierta en 1958 por Lerner (Lerner et al., 1958), y cuyos primeros descubrimientos estuvieron estrechamente relacionados con el rol de esta hormona con los patrones reproductivos de los animales dependientes del fotoperiodo (Abecia et al., 2012). En el momento en el que se descubre la melatonina como responsable de informar al organismo de la época del año en la que se encontraba, ya se sabía que el fotoperiodo era el responsable de los cambios desencadenados en el organismo en las diferentes épocas del año (Baker et al., 1932). En los mamíferos, las ondas de luz o la ausencia de ellas son captada por las células ganglionares de la retina, que a través de sus axones envían la información vía el tracto retinohipotalámico hasta el núcleo supraquiasmático del hipotálamo, el cual se considera el principal lugar de regulación del ritmo circadiano del organismo. Aquí es donde se controla la síntesis y liberación de melatonina por parte de la glándula pineal; enviando estas señales a través de una compleja red multisináptica desde esta región hasta la epífisis (Revel et al., 2007).

El neurotransmisor que transmite la información a la glándula pineal para sintetizar melatonina es la noradrenalina, procedente de terminaciones nerviosas simpáticas, y que se une a los receptores  $\alpha$ -1 y  $\beta$ -1 adrenérgicos que poseen los pinealocitos. Esta señal va a desencadenar la liberación de calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) y AMP cíclico (AMPC) en la célula para activar una serie de reacciones enzimáticas que a partir del triptófano van a dar lugar como producto final la melatonina (Lee et al., 2021).

A diferencia de otras especies en las que puede pasar hasta una hora desde que se capta la oscuridad hasta que da comienzo la síntesis y secreción de melatonina, en la especie ovina este fenómeno se desencadena de forma inmediata en cuanto hay oscuridad (Arendt, 1998). Esto supone que las concentraciones plasmáticas de melatonina durante la noche sean elevadas pero durante el día sean basales, y esas altas concentraciones de la hormona durante la noche tengan este efecto gonadotrófico que favorece la reproducción del ganado ovino en época de fotoperiodo decreciente (Abecia et al., 2012).

Una vez secretada, la melatonina tiene diferentes receptores en el organismo: MT1, MT2, Mel1c y MT3. Estos receptores los podemos encontrar en el cerebro y en la hipófisis, siendo la *pars tuberalis* (PT) la región anatómica en la que más concentraciones encontramos de estos (Malpaux et al., 2001). Además, en un estudio de Pelletier et al., (2000), encontraron una correlación entre la falta de ciclicidad de las ovejas en primavera con la ausencia de un alelo del gen que codifica el receptor MT1, que corrobora todavía más la participación de la melatonina en la regulación estacional de la reproducción.

La vía de llegada más probable de la melatonina desde la glándula pineal hasta sus sitios de unión en el hipotálamo es a través del tercer ventrículo, debido a la cercanía de éste a sus receptores, que podría favorecer la difusión de la melatonina a través del fluido cerebro espinal hasta sus sitios de unión (Malpaux et al., 1998). Sin embargo, también se piensa que la melatonina podría acceder a sus sitios de unión a través de la circulación sanguínea periférica, ascendiendo al sistema nervioso central a través de la arteria carótida, aunque se cree menos probable debido a que la concentración de melatonina es mucho más elevada en el líquido cefalorraquídeo que en la sangre de las ovejas y las cabras (Kanematsu et al., 1989; Shaw et al., 1989)

Por su parte, la PT capta la melatonina cuando esta se une a sus receptores MT1, y hace que se liberen mensajeros lipídicos y proteicos en el interior de las células que van a provocar el envío de señales al organismo a través de dos vías, la vía anterógrada y la vía retrógrada. La vía anterógrada, entre otros mecanismos, manda información desde la PT hasta la *pars distalis* (PD) afectando a la producción y secreción de prolactina y a la angiogénesis en los vasos portales del sistema porta hipofisario; mientras que la vía retrógrada conecta la PT con el hipotálamo mediobasal y actúa a través de hormonas tiroideas producidas a este nivel que van a ejercer una estimulación de las gónadas mediada por la GnRH liberada por parte de los axones terminales en la eminencia media. (Korf, 2018).

Aparte de estas acciones, la melatonina también tiene un efecto modulador de la reproducción al actuar en el sistema KiSS-1/GPR54. El GPR54 es el sitio de unión del producto producido por el gen KiSS-1, presentado principalmente en células del núcleo paraventricular y arcuato del hipotálamo, mientras que el GPR54 está más presente en las células productoras de GnRH. A través de este mecanismo, la melatonina también actúa proporcionando una información del fotoperiodo y modulando la actividad reproductiva a través de variaciones en la concentración de hormonas y esteroides sexuales (Revel et al., 2007).

Para que la melatonina pueda informar al organismo de la longitud del día y ejercer sus efectos desencadenando cambios reproductivos y conductuales en el organismo en época de días cortos, se tienen que dar tres condiciones básicas relacionadas con la hormona: la concentración de melatonina tiene que superar un mínimo (mayor concentración en la noche frente a una menor concentración durante el día), la duración de la concentración de melatonina tiene que superar un mínimo de tiempo a lo largo del día (diferencia entre días cortos y días largos) y la detección del cambio en la duración y cantidad depende de la exposición al fotoperiodo anterior, es decir, no solo afecta el fotoperiodo actual, sino que la respuesta también depende del histórico del fotoperiodo al que han estado expuestos los animales (Malpaux et al., 2001).

Con la finalidad de favorecer la reproducción en épocas no reproductivas, se aplican implantes de melatonina exógena que ejercen el mismo efecto que la melatonina endógena, por lo que simulan los efectos de los días cortos en el organismo. Estos implantes liberan grandes cantidades de melatonina durante las 24 horas del día, haciendo que se sucedan pulsos de hormona liberadora de LH (LHRH) y de LH, llegando a los 10 pulsos cada 6 horas (Malpaux et al., 1997; Viguie et al., 1995). La melatonina se comercializa en forma de implantes subcutáneos de 18 mg que se inyectan en la base de la oreja de ovejas y cabras y libera la melatonina en cantidades similares a la que el propio animal lo hace en época reproductiva (AEMPS, 2021), durante unos 60-70 días, aunque en algunas ocasiones se ha objetivado que la liberación se puede extender hasta los 100 días, sin interferir en la liberación de melatonina endógena del animal (Forcada et al., 1995,2013).

La aplicación del tratamiento con melatonina ha de empezar al menos dos meses antes del inicio de la época natural de celos, lo que quiere decir que en las latitudes en las que se encuentra España lo más correcto sería aplicarlo alrededor del equinoccio de primavera, es decir, en marzo-abril, mientras que en latitudes superiores, en las que la estacionalidad de las ovejas es más marcada sería más correcto aplicar los tratamientos en épocas algo más tardías, entorno al solsticio de verano, ya que estas razas empiezan la época reproductiva más tarde. Sin embargo, algunos estudios han revelado que la aplicación del tratamiento más temprano, entorno al solsticio de invierno han mostrado buenos resultados en cuanto a fertilidad y prolificidad. Posterior a la implantación, es importante esperar unos 40 días hasta la introducción de los machos, y estos han de permanecer un tiempo equivalente a dos ciclos sexuales consecutivos (35 días) (Forcada et al., 2013).

Como ya ha sido mencionado anteriormente, es muy importante tener en cuenta el histórico del fotoperiodo para poder conseguir el efecto deseado al aplicar tratamientos con melatonina. Esto quiere decir que una misma longitud del día en un momento u otro puede tener consecuencias opuestas en las ovejas según su experiencia fotoperiódica previa; un estudio de Robinson y Karsch (1984) mostró que un grupo de ovejas Suffolk entraban en época de celos a finales de verano, cuando la longitud del día era relativamente larga, de 14 horas, y terminaban esta época cuando el día alcanzaba las 11,5 horas de luz. Por ello, la longitud del día de cada época del año tiene una función diferente. El periodo de anestro comienza debido a una refractariedad que se adquiere a los días cortos, con lo que la época reproductiva se termina, y conforme se va dando el fotoperiodo ascendente las ovejas se van sensibilizando a los efectos inhibidores a los días largos previos al solsticio de verano. Posteriormente, los días decrecientes pero largos que se dan hasta el equinoccio de otoño consiguen que la duración de la época reproductiva se normal, para que durante el otoño se rompa la refractariedad con los días largos

y se sensibilice a ellos durante la primavera siguiente (Forcada et al., 2013). Teniendo en cuenta esto, se ha llegado a la conclusión de que para volver a estimular a las ovejas con melatonina y simular días cortos, tienen que estar expuestas a al menos 35 días largos para que esta surja efecto (Sweeney et al., 1997).

Además de las acciones sobre el eje neuroendocrino que ejerce la melatonina, esta también actúa a otros niveles del organismo, ya que tiene receptores en diferentes órganos, y no solo a nivel del sistema nervioso central (SNC) (Abecia et al., 2012). Uno de estos lugares en los que la melatonina tiene un fuerte efecto es en el folículo preovulatorio, donde esta puede modificar la esteroidogénesis mediante la modulación de sus genes de expresión, reducir la expresión de genes apoptóticos y aumentar la expresión de genes antiapoptóticos en las células de la granulosa, así como ejercer un fuerte poder antioxidante en las células de la teca, granulosa y cuerpo lúteo (Pulinas et al., 2021).

Con el uso de la melatonina, se ha observado que la prolificidad y la fertilidad en el ganado ovino experimentan un aumento del orden del 15-30% en ovejas de raza rasa aragonesa en relación a ovejas control que no se han tratado (Abecia et al., 2007). Sin embargo, hay autores que defienden que la prolificidad no se modificó cuando se utilizan estos tratamientos, quizás porque los experimentos se realizaron con animales de aptitud lechera de raza sarda (Pulinas et al., 2021), lo que concuerda con el resultado obtenido por Abecia et al. (2007), que encontró estos mismos resultados al aplicar los tratamientos en la raza de aptitud lechera Assaf. Este aumento del número de corderos nacidos se explica mediante dos mecanismos de acción de los cuales la melatonina es responsable: una acción luteotrófica causante de un mejor ambiente para el desarrollo embrionario (Abecia et al., 2002) y por una reducción de la atresia folicular en la folículogénesis tardía, que provoca un aumento de la tasa de ovulación (Bister et al., 1999). Sin embargo, cuando se practican tratamientos de superovulación en las hembras no vemos este aumento extra provocado por la melatonina, ya que las hormonas encargadas de la superovulación se encargan de reclutar folículos independientemente de los mecanismos de atresia folicular (McEvoy et al., 1998).

Es interesante recalcar que los tratamientos de melatonina a menudo se combinan con la práctica del efecto macho. A raíz de ello se han llevado a cabo diversos estudios, demostrando que los partos de ovejas tratadas con melatonina en las que se practica el efecto macho están mucho más agrupados que las ovejas control, no tratadas. Esto es debido a que cuando se introducen los moruecos al rebaño, hay una mayor proporción de ovejas cíclicas en el grupo tratado con respecto al control, ya que la melatonina induce la ciclicidad ovárica (Abecia et al., 2006).

Otra ventaja de la melatonina es, a diferencia de otros tratamientos hormonales su posibilidad de utilizarla en machos, a los que se les administran tres implantes de melatonina una semana antes de hacerlo en las hembras, y 40 días después se juntan (Abecia et al., 2012). En época no reproductiva los moruecos siguen siendo fértiles, pero su libido se ve reducida, así como el tamaño testicular, y la calidad y cantidad de los espermatozoides. Cuando se tratan los moruecos con melatonina se ve un aumento de la circunferencia escrotal y la cantidad de espermatozoides producidos, lo que sugiere que esta provoca una proliferación del parénquima testicular. Estos efectos no solo son debidos a la información de la longitud del fotoperiodo que la melatonina proporciona al organismo, sino que también influyen los efectos que se producen al unirse a los receptores que se distribuyen a lo largo del tracto reproductor (Pool et al., 2020).

La unión de la melatonina a los espermatozoides aumenta su capacitación y reactivación acrosomal, además de la cantidad de espermatozoides con el cromosoma intacto a la evaluación con microscopio de contraste de fases (Garde et al., 1996; González-Arto et al., 2017). Por otra parte, y en concordancia con el poder antioxidante de la melatonina, también los espermatozoides sufren un menor daño oxidativo provocado por especies reactivas de oxígeno (Reiter et al., 2016).

En relación con los efectos en los machos, se ha confirmado en estudios *in vitro* que al someter cultivos mixtos de células de Sertoli y Leydig a concentraciones de melatonina de  $10^{-7}$  M, aumenta la cantidad de testosterona sintetizada, además de disminuir la cantidad de estrógenos (Deng et al., 2018).

## EFFECTO MACHO

El efecto macho es un método natural de inducción de celos en ovejas en anestro que consigue aumentos de los pulsos de LH a los pocos minutos de introducirlos en el rebaño (Abecia y Forcada, 2010) tras un periodo de separación que varía según los autores; hay quienes defienden una duración igual o superior a tres semanas (Gonzalez-Bulnes et al., 2013), otros que indican que con dos semanas es suficiente (Oldham y Cognie, 1980), con 24 horas (Cohen-Tannoudji y Signoret, 1987) o incluso que la separación entre machos y hembras no es estrictamente necesaria para que se den estas descargas de LH en la ovejas (Delgadillo et al., 2009).

Para que se lleve a cabo la ovulación y la presentación de celo, la oveja recibe gran cantidad de estímulos olfatorios (Morgan et al., 1972) y no olfatorios (Delgadillo et al., 2009). Los estímulos olfatorios son debidos principalmente a una serie de ácidos grasos ramificados secretados por las glándulas sebáceas de la piel (Knight y Lynch, 1980) que se encuentran en la

lana de los moruecos y no en la de las hembras, y que son feromónicamente activas (Gelez y Fabre-Nys, 2004), lo que provocan un efecto cuando son captadas por las hembras. Los moruecos sedados provocan un aumento inicial de la LH igual que los moruecos despiertos, lo que demuestra que el sentido del olfato juega un papel importante en el desencadenamiento del efecto macho (Vielma Sifuentes, 2006).

Otro estímulo que actúa en el efecto macho es el visual, que también desencadena un pico de LH en las ovejas, aunque no tan grande como el provocado por el olfatorio, por lo que se le considera complementario a este (Hawken et al., 2009). Las vocalizaciones también han sido objeto de estudio, aunque por sí solas no se ha visto que provoquen picos de LH (Smith et al., 2018). Estos picos de LH pueden comenzar 10 minutos tras la introducción de los machos (Abecia y Forcada, 2010) y van aumentando su frecuencia hasta inducir la descarga preovulatoria entre 30 y 72 horas tras el primer contacto. Esta primera ovulación desencadenada por el efecto macho normalmente no va acompañada del comportamiento de celo; tras ella, se puede dividir el rebaño en dos grupos, constituyendo cada uno de ellos aproximadamente el 50% de los animales presentes: ovulación con celo a los 18-19 días de haber introducido los moruecos (segundo ciclo de duración normal), y segunda ovulación sin celo 7 días después de haber ovulado una vez, debido a la mala calidad del cuerpo lúteo precedente. En este último grupo, la tercera ovulación finalmente va acompañada de celo, y se da unos 25 días tras el primer contacto con los machos (Gonzalez-Bulnes et al., 2013).

Todas estas respuestas del organismo frente a estímulos de los machos son mucho más marcadas en ovejas que han tenido experiencias anteriores que en ovejas jóvenes (Murtagh et al., 1984), y también influyen factores relacionados con los moruecos, como su actividad sexual (Perkins y Fitzgerald, 1992) o con la calidad de la separación previa en cuanto a distancia, posibilidad de contacto visual u olfatorio y a los estímulos y las relaciones que se llevan a cabo cuando se juntan los animales (Pearce y Oldham, 1988). La utilidad del efecto macho viene dada por el aumento de la productividad de las hembras de pequeños rumiantes en épocas desfavorables y a bajo coste, que se puede utilizar tanto para adelantar la pubertad en corderas como para adelantar el reinicio de la actividad ovárica tras el parto (Godfrey et al., 1998).



**Figura 1.** Distribución de los partos en época de parición en un rebaño de ovejas sometidas al efecto macho, en el que se diferencian los diferentes grupos antes explicados. El principio se corresponde a las ovejas que eran cíclicas en el momento de la introducción de los machos, posteriormente hay un primer pico entre los días 22-23, que se corresponde con las ovejas que han tenido un primer celo silente con un ciclo de duración normal y por último otro pico que se corresponde con el día 26 que representa a las ovejas con un primer ciclo acortado, seguido de otro ciclo con ovulación silente y por último el ciclo de duración normal y estro. Adaptada de Folch (1990)

## PROSTAGLANDINA F2 $\alpha$

El efecto luteolítico de la prostaglandina-F<sub>2</sub> $\alpha$  (PGF<sub>2</sub> $\alpha$ ) se descubrió en 1970 por (McCracken et al., 1970), y desde entonces se ha estudiado y utilizado para el control de los ciclos sexuales de las ovejas. De manera natural, la PGF<sub>2</sub> $\alpha$  se sintetiza en el útero y pasa al torrente sanguíneo a través de la vena útero-ovárica, para transferirse por anastomosis a la arteria ovárica y así alcanzar el ovario y producir la luteolisis (Baird y Scaramuzzi, 1975)

El fármaco análogo de la prostaglandina natural más utilizado es el 16-aryloxyprostaglandina (Cloprostenol), que induce la luteolisis de la misma forma que la prostaglandina natural, es 100 veces más potente y además tiene más propiedades selectivas que esta (Fierro et al., 2013).

La vía de administración es intramuscular y una de las grandes ventajas que presenta es que no deja residuos en el medio ambiente ya que el 99% del fármaco es metabolizado en los

pulmones (Light et al., 1994). Su mecanismo de acción en el control del ciclo se basa en la eliminación del cuerpo lúteo de los ovarios de las ovejas cíclicas (Abecia et al., 2012). Para que este fenómeno se lleve a cabo, el cuerpo lúteo tiene que ser sensible a la acción de la prostaglandina, algo que sucede a partir del día 3 del ciclo estral hasta el día de la luteolisis. Los mejores resultados en cuanto a la aparición temprana de celos (Rubianes et al., 2003) y la cantidad de ovulaciones en las hembras tratadas se han visto cuando el tratamiento se ha hecho en los inicios de la fase luteal, posiblemente debido a una alta cantidad de folículos en la primera ola de crecimiento. Sin embargo, como en un rebaño hay ovejas en diferentes fases del ciclo, es más efectivo administrar dos inyecciones de  $\text{PGF}_2\text{-}\alpha$  a un intervalo de 9-10 días (Abecia et al., 2012), con lo que se consigue que a las 72 h tras la segunda inyección el 95% de las ovejas tratadas salgan en celo (Acritopoulou-Fourcroy et al., 1982), con la finalidad de agrupar los celos en épocas determinadas. Esta reducción del intervalo  $\text{PGF}_2\text{-}\alpha$ -estro se explica con la dinámica folicular del ovario (Viñoles y Rubianes, 1998), ya que si en el momento de la administración hay presencia de folículos dominantes, estos ovularán rápido y la oveja presentara signos de estro, mientras que si los folículos están en regresión, uno tendrá que crecer y por tanto la ovulación y el estro se retrasan (Fierro et al., 2013)

Además, cuando se practican en conjunto este método junto a métodos naturales como el efecto macho, introduciendo estos al rebaño tras la segunda inyección de  $\text{PGF}_2\text{-}\alpha$ , se avanza la salida a celo de las ovejas en comparación con los protocolos en los que solo se usa  $\text{PGF}_2\text{-}\alpha$  (Fierro et al., 2013)

Una de las desventajas que presenta el uso de  $\text{PGF}_2\text{-}\alpha$  en la sincronización de celos es que solo se puede usar durante la época reproductiva natural (época de días cortos) en razas de climas templados (Abecia et al., 2012), mientras que en zonas tropicales se puede utilizar durante todo el año, ya que estas razas de ovejas no presentan estacionalidad reproductiva (Godfrey et al., 1999, 1997)

Tras la luteolisis provocada por la administración de prostaglandina exógena se reestablecen los niveles basales de progesterona plasmática, la cantidad y frecuencia de descargas de LH y el crecimiento folicular de la misma forma que cuando actúa la prostaglandina endógena (Gonzalez-Bulnes et al., 2013).

## RAZA LACAUNE

La raza lacaune es una raza francesa originaria de la zona del Macizo Central que tiene un origen multirracial, en el que se incluyen razas autóctonas como la Montagne negra, Lazarc y Largaguais, a las que se les añadieron algunas razas extranjeras (Accueil - UPRA Lacaune, 2022). En España se trata de una raza clasificada como integrada en el Catálogo Oficial de Razas, que se introdujo en los años 80 del siglo XX con la finalidad de aumentar la producción lechera de los rebaños de ovino lechero. Actualmente el censo en nuestro país se estima en unas 120.000 cabezas, repartidas principalmente en las comunidades autónomas de Andalucía, Castilla la Mancha, Navarra, Castilla y León y Extremadura mientras que en Francia hay unas 870.000 cabezas de raza Lacaune, constituyendo aproximadamente el 20% del censo de ganado lanar en el país. (AESLA, 2018)

En cuanto a sus características morfológicas, se trata de ovejas elegantes, de orejas largas y horizontales con la cabeza fina y larga, de perfil recto y cubierta por pelos blancos que le dan un toque plateado. El cuerpo es largo, con un dorso largo, bien aplomada y de pecho profundo. Son animales grandes, con una altura de entre 70 y 80 cm a la cruz, y un peso aproximado de 70 kg para las hembras y 100 kg para los moruecos. La lana es entrefina, de color blanco y mechón corto, con un peso de vellón de 1,5 a 2 kg, el cual no cubre ni la cabeza, ni la nuca ni la parte anterior del cuerpo (Babo, 2000, Gamarra Lazo, 2016). Además, es una raza rústica, con una buena adaptación al pastoreo y a diferentes terrenos y paisajes, así como una elevada resistencia al calor y a los desplazamientos de larga distancia (Babo, 2000).

En sus inicios esta raza se utilizaba para la producción de leche, debido a su alta producción de leche por lactación (350 kg en lactaciones medias de 150 días) y a la alta calidad de su leche con proporciones de 7,04% de grasa y 5,56% de proteína (MAPA). Además, tiene una alta facilidad de ordeño mecánico, ya que de estas ovejas se puede obtener un 80% de leche como leche de máquina sin manipular la ubre (Gamarra Lazo, 2016). Esta leche se utiliza para la fabricación del queso Roquefort, el cual posee una apelación de origen en Francia y se hace a partir de leche cruda entera (Gamarra Lazo, 2016).

Sin embargo, debido a los buenos rendimientos cárnicos de esta raza, desde 1970 la selección de los animales tomó dos vertientes: una especializada en ovejas productoras de leche, y otra en la que se buscan los rendimientos cárnicos (Gamarra Lazo, 2016), convirtiendo a esta raza en una raza de doble aptitud carne y leche (AESLA, 2018). Los corderos de raza lacaune presentan una buena calidad cárnica, con buenos índices de engorde y calidad de la canal. En Francia estos productos se comercializan bajo el nombre de marcas de calidad como

son el Agneau Lou Paillol, IGP Agneau laiton de l'Aveyron, y en España se incluye en la marca de calidad Lechazo de la Meseta Castellano Leonesa (Raza ovina LACAUNE, 2022)

## JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de la combinación melatonina-prostaglandinas para controlar el ciclo sexual de un rebaño de ovejas Lacaune en una cubrición de diciembre.

## METODOLOGÍA

El experimento se llevó a cabo en una ganadería comercial en el noreste de España (42°26'N), bajo procedimientos aprobados por el Comité de Ética de la Universidad de Zaragoza, de acuerdo con la Política Española de Protección Animal y la Directiva de la Unión europea 2010/63 sobre la protección de los animales utilizados con fines experimentales.

Se utilizaron 500 ovejas de raza Lacaune de línea carne que se dividieron en 4 grupos: un grupo de 86 ovejas que recibieron un implante subcutáneo de melatonina (Melovine, CEVA Salud Animal, Barcelona, España) en la base de la oreja izquierda el 7 de noviembre de 2020 (grupo M); otro grupo de 64 ovejas que recibieron el mismo tratamiento que el primer grupo y posteriormente, el 11 de diciembre, 34 días tras haber recibido el tratamiento con melatonina, se les administró una inyección de 10 mg de  $\text{PGF}_2\text{-}\alpha$  (grupo M+1PGF). Un tercer grupo de 75 ovejas recibió inyecciones de  $\text{PGF}_2\text{-}\alpha$  el 2 y el 11 de diciembre (grupo 2PGF), y por último las restantes 275 ovejas, no tratadas, se usaron como grupo control (grupo C). Todas las ovejas se mantuvieron en un mismo rebaño pastando durante el día (Figura 2) y estabuladas durante la noche, con condiciones de iluminación naturales. Los moruecos (n=23) no recibieron ningún tratamiento y se introdujeron al rebaño el 11 de diciembre, para permanecer un total de dos meses.

Un mes antes de que empezara la época de partos se estabuló el rebaño y recibieron alimentación *unifed* para cubrir las necesidades de gestación y lactación. En las 24 horas siguientes al parto se identifica el cordero, se relaciona su crotal con el de su madre registrando ambos en una base de datos y se asegura una toma de calostro.



**Figura 2.** Rebaño utilizado para la realización de los tratamientos. Imagen propia.

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Durante la época de partos (4 de mayo- 22 de junio), se registró el número de corderos nacidos por parto (representando la prolificidad del rebaño), y la fertilidad (% de ovejas paridas entre el número total de ovejas) y fecundidad (número de corderos nacidos por oveja) se calcularon a partir de los datos recogidos. Las diferencias en el porcentaje de fertilidad se evaluaron estadísticamente mediante la prueba  $\chi^2$ , así como los efectos de los tratamientos en cuanto a prolificidad y fecundidad se evaluaron estadísticamente mediante un multifactorial ANOVA utilizando el GLM en el procedimiento del GLM de SPSS (v .26), incluyendo el tratamiento de las ovejas con melatonina y/o  $\text{PGF}_2\text{-}\alpha$  y su interacción. Se calculó el porcentaje de ovejas paridas por día y el número de ovejas paridas en intervalos de diez días también

## ÍNDICES REPRODUCTIVOS

Los índices utilizados son los siguientes:

$$\text{Fertilidad} = \frac{\text{Número de ovejas paridas}}{\text{Número de ovejas a cubrir}} * 100$$

$$\text{Prolificidad} = \frac{\text{Número de corderos nacidos}}{\text{Número de partos}} * 100$$

$$\text{Fecundidad} = \frac{\text{Número de corderos nacidos}}{\text{Número de ovejas a cubrir}} * 100$$

## RESULTADOS

En cuanto al análisis de resultados, en la tabla 1 podemos ver que la tasa de fertilidad no difiere significativamente entre los diferentes grupos, si bien es algo más alta en el grupo de ovejas que recibieron solamente el implante de melatonina.

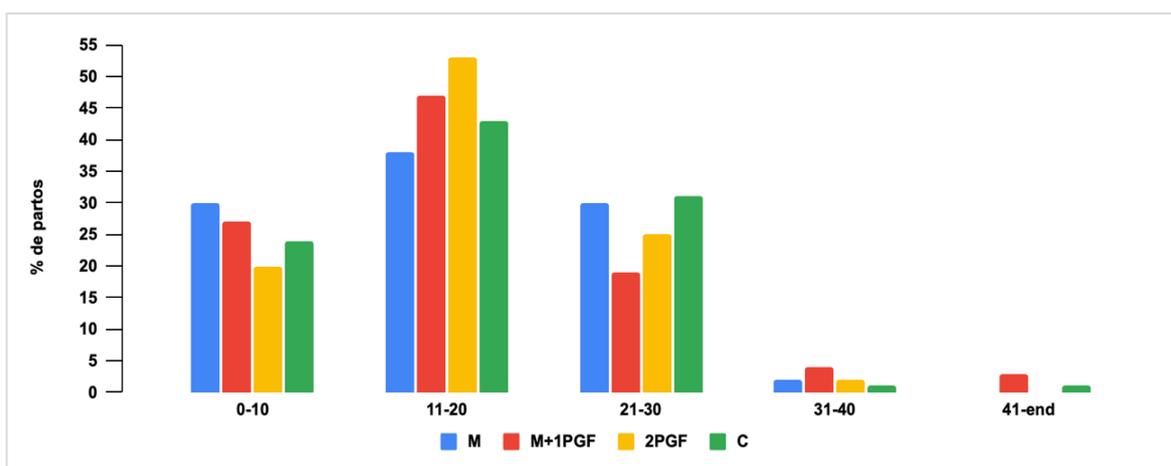
El grupo M+1PGF tuvo una prolificidad significativamente más alta que los grupos 2PGF ( $P < 0,10$ ) o C ( $P < 0,05$ ), así como algo mayor que el grupo M, pero si se analizan de forma conjunta los dos grupos de animales que recibieron implantes de melatonina (M y M+1PGF) y se comparan con los dos grupos que no la recibieron (C y 2PGF), se observó que la prolificidad en los animales implantados con melatonina ( $1,69 \pm 0,06$  corderos/parto) ( $P < 0,05$ ) es significativamente mayor que en los animales que no la recibieron ( $1,56 \pm 0,04$  corderos/parto). Del mismo modo, la fecundidad es también superior en los animales que recibieron melatonina en comparación a los que no la recibieron ( $1,33 \pm 0,07$  corderos/oveja;  $1,14 \pm 0,04$  corderos/oveja) ( $P = 0,01$ ).

Siguiendo la misma línea, y con el objetivo de ver los efectos que provocó la prostaglandina en los índices reproductivos, se pueden analizar las ovejas que recibieron una o dos dosis de prostaglandina (M+1PGF y 2PGF) y compararlo con las que no la recibieron (grupos M y C), viendo que no hay ninguna diferencia significativa en prolificidad ( $1,63 \pm 0,06$  vs  $1,58 \pm 0,04$ ) ni en fecundidad ( $1,20 \pm 0,06$  vs  $1,19 \pm 0,04$ ) entre los animales que recibieron prostaglandina y los que no (Tabla 1).

	M	M+1PGF	2PGF	C
N	86	64	75	275
Fertilidad (%)	79	78	69	74
Prolificidad (corderos/parto)	$1,65 \pm 0,07$	$1,74 \pm 0,09$	$1,54 \pm 0,8$	$1,56 \pm 0,04$
Fecundidad (corderos/oveja)	$1,30 \pm 0,09$	$1,36 \pm 0,11$	$1,07 \pm 0,10$	$1,16 \pm 0,05$

**Tabla 1.** Fertilidad (% de ovejas paridas), y prolificidad media ( $\pm$ ES) (número de corderos nacidos/parto) y fecundidad (número de corderos nacidos/oveja) de ovejas Lacaune tratadas con melatonina (M), con melatonina más una inyección de PGF2 $\alpha$  (M+1PGF), dos inyecciones de PGF2 $\alpha$  (2PGF) o no tratadas, ovejas control (C) en una cubrición de diciembre.

En cuanto a la distribución de los partos a lo largo del tiempo en la temporada de partos, todos los grupos acumularon al menos un 75% de los partos en las 3 primeras semanas, y en todos se dio el máximo número de partos entre los días 11 y 20. Además en torno a la mitad de los partos de ovejas que recibieron una o dos dosis de prostaglandina (M+1PGF y 2PGF) se concentraron entre los días 11 y 20, siendo este periodo el de mayor número de partos en todos los grupos (Figura 3).



**Figura 3.** Distribución porcentual de los partos de ovejas Lacaune tratadas con melatonina (M), con melatonina más una inyección de PGF2 $\alpha$  (M+1PGF), dos inyecciones de PGF2 $\alpha$  (2PGF) o no tratadas, ovejas control (C) en una cubrición de diciembre.

## DISCUSIÓN

En cuanto a la melatonina, la conclusión hay que valorarla teniendo en cuenta que los resultados significativos se observan al enfrentar los dos grupos con melatonina frente a los dos grupos sin melatonina. Esta es la conclusión más relevante que se puede sacar del estudio, pues se ha visto que la melatonina ha aumentado de forma significativa los corderos nacidos por parto y los corderos nacidos por oveja, o lo que es lo mismo: la melatonina afectó positivamente a la prolificidad y fecundidad.

El hecho de haber recibido un implante de melatonina hizo que las ovejas con este tratamiento produjeran un 18% más de corderos que las del grupo control, y un 27% más que las ovejas que recibieron dos dosis de  $\text{PGF}_2\text{-}\alpha$ . Este resultado nos indica que la melatonina tuvo un gran efecto en el aumento de la prolificidad, y que además esta prolificidad se aumentó más al añadirle una dosis de  $\text{PGF}_2\text{-}\alpha$ .

El mayor número de corderos nacidos por parto significa que las ovejas implantadas consiguieron llevar a término a más corderos por gestación que las ovejas no implantadas, por lo que la melatonina ha podido tener efectos en el aumento de la tasa de ovulación o la reducción de la mortalidad embrionaria por medio de diferentes mecanismos.

Se ha visto que la prolificidad difiere en las ovejas según el sistema de producción y el momento del año en el que estas se han implantado con melatonina, obteniéndose resultados muy diversos. Un punto clave en la discusión de estos resultados se relaciona con la refractariedad a los días cortos y el momento de la implantación, pues a finales de invierno las ovejas se vuelven refractarias a los días cortos y necesitan de una época de días largos para volver a responder a la melatonina (Forcada et al., 2013). En este estudio no se implantó en la época que se suele implantar en los tratamientos a nivel de campo, pero al aplicarse el tratamiento durante la época reproductiva, todavía lejos del final se pudo sumar el efecto de la melatonina endógena con la exógena, pues los animales aún no habían adquirido refractariedad a los días cortos. Este efecto ya había sido demostrado por Forcada et al. (2002), donde se mejoraron los parámetros reproductivos al tratar inmediatamente después del solsticio de invierno.

La fecundidad, es decir, la cantidad de corderos nacidos por oveja puesta a la reproducción también aumentó en los animales tratados con melatonina en relación con los que no lo recibieron, por lo que la melatonina tuvo un efecto positivo en la cantidad de ovejas que salieron en celo en la época que se les presentaron los machos. Posiblemente las ovejas fueran cíclicas antes de introducir a los machos, puesto que se encontraban en época reproductiva y se les suplementó con melatonina, aunque en un estudio de Zúñiga et al. (2002) se demostró que las ovejas tratadas con melatonina sobre las que se practicaba el efecto macho no eran cíclicas antes de la introducción de los machos, sino que salían en celo tras el efecto macho. En cualquier caso, las hembras implantadas produjeron más corderos y salieron más en celo, por lo que se evidencia el efecto de la melatonina potenciadora de las cualidades reproductivas de las hembras.

Por su parte, la  $\text{PGF}_2\text{-}\alpha$  tuvo un doble efecto en los resultados obtenidos. Por un lado, aumentó la prolificidad en el grupo de animales implantados a los que se les inyectó una dosis

de  $\text{PGF}_2\text{-}\alpha$  (M+1  $\text{PGF}_2\text{-}\alpha$ ) hasta obtener 1,74 corderos por parto, el mayor resultado de los cuatro grupos; y por otro lado influyó en la distribución de los partos.

El efecto esperado de la prostaglandina en cuanto al momento de ovulación según experimentos previos es 72 horas tras la segunda dosis en el 95% de los animales tratados (Acritopoulou-Fourcroy et al., 1982), lo que conllevaría que los partos se agrupasen principalmente en la primera semana. Sin embargo, en este experimento un alto porcentaje de partos se agruparon entre los días 11 y 20. Siguiendo esta lógica, con los resultados obtenidos se puede sugerir que las cubriciones de estas hembras tuvieron lugar entre la segunda y tercera semana, por lo que la cubrición fértil no fue en el primer celo provocado por la  $\text{PGF}_2\text{-}\alpha$ . Este hecho se podría explicar debido a la presencia de una primera ovulación sin celo posterior a la introducción de los machos o a una mortalidad embrionaria temprana hasta el día 12, lo que permite que no aumente el intervalo con el siguiente celo (Abella and Héctor, 2011). Además, se ha observado que la prolificidad de las ovejas cubiertas en el celo posterior al inducido por las esponjas es significativamente superior al propio inducido, probablemente por un aumento de la tasa de ovulación de ese segundo ciclo (Abecia, comunicación personal).

La mortalidad embrionaria temprana en animales que se han sincronizado con  $\text{PGF}_2\text{-}\alpha$  se ha descrito anteriormente, ya que el cuerpo lúteo que se desarrolla tras este tratamiento tiene una menor capacidad para secretar progesterona (White et al., 1987), que es la hormona necesaria para el mantenimiento de la gestación, y por ello la supervivencia embrionaria disminuye (Parr, 1992).

Fierro et al. (2011), obtuvieron resultados similares tras sincronizar un rebaño con dos dosis de  $\text{PGF}_2\text{-}\alpha$  a un intervalo de 7 días en los que esta hormona hizo disminuir la concentración de progesterona plasmática, con su consiguiente disminución de la tasa ovulatoria, así como de la prolificidad, fecundidad y fertilidad, en comparación con los resultados obtenidos en un grupo control.

Con estos resultados se puede objetivar que la melatonina ha tenido un efecto en el aumento de la productividad numérica de los animales tratados, y que además al combinarla con una dosis de prostaglandina se consigue un efecto de agrupación de partos, lo que facilita el manejo y agrupa el trabajo en un número más reducido de días.

## CONCLUSIONES

Este experimento ha servido para demostrar una vez más los beneficios de la melatonina en la reproducción de los pequeños rumiantes, sus efectos en la productividad numérica y en las hembras productivas que va a haber en el rebaño una vez instaurado un protocolo basado en esta hormona. Además, el uso de la  $\text{PGF}_2\text{-}\alpha$  combinada con la melatonina también ha supuesto un aumento extra de la producción de los animales. Todos estos aumentos hay que valorarlos en conjunto con la época del año en la que se dieron los tratamientos, pues hay que aplicarlos en su época y hacerlo siguiendo el protocolo recomendado para obtener el máximo de beneficio.

Es importante también tener en cuenta que las ovejas utilizadas van a volver a ser puestas a la reproducción una vez se desteten los corderos, siguiendo el sistema de tres cubriciones por año, por lo que se tiene que conseguir que sean cíclicas también en la siguiente cubrición. Para ello habría que estudiar la refractariedad a la melatonina que pueden acarrear tras haber recibido la dosis exógena en época de días cortos. Esto sería un buen objeto de estudio para experimentos futuros, con el que se obtendrían los resultados reproductivos de un rebaño sometido a diferentes tratamientos a lo largo de un año.

Por otra parte, no se han obtenido resultados satisfactorios al utilizar  $\text{PGF}_2\text{-}\alpha$  para agrupar los celos en el momento de introducir los machos.

## CONCLUSIONS

This experiment has served to demonstrate once again the benefits of melatonin in the reproduction of small ruminants, this effects on numerical productivity and on the productive females in the herd once a protocol based on this hormone has been established. In addition, the use of  $\text{PGF}_2\text{-}\alpha$  combined with melatonin has also led to an extra increase in the production of animals. All these increases must be assessed together with the time of year in which the treatments were given, since they must be applied at the time and done following the recommended protocol to obtain the maximum benefit.

It is also important to bear in mind that the ewes used will be put back to reproduction once the lambs are weaned, following the system of three matings per year, so they must be cyclical in the next mating as well. For this, it would be necessary to study the refractoriness to melatonin that they can cause after having received the exogenous dose during short days. This would be a good object of study for future experiments, with which the reproductive results of a herd subjected to different treatments throughout a year would be obtained.

On the other hand, no satisfactory results have been obtained using PGF<sub>2-α</sub> to group oestrus at the time of male introduction.

## VALORACIÓN PERSONAL

La realización de este trabajo ha resultado ser una experiencia positiva tanto en lo que a la práctica se refiere como a la realización de una revisión bibliográfica. La parte práctica permitió un trato cercano con los animales, así como un manejo continuado durante la época de tratamientos y de recogida de datos, lo que supone una parte fundamental en la formación veterinaria. Por otra parte, la realización de una revisión bibliográfica también ha supuesto un reto debido a los escasos conocimientos de muchos temas que se tratan a lo largo del trabajo, que se han ido profundizando conforme el trabajo ha ido avanzando. Además, ha sido también muy importante la búsqueda de información válida, y de fuentes fiables y actualizadas.

El estudio que se ha realizado también me ha permitido ver el desarrollo de un experimento práctico, desde el inicio hasta el fin, suponiendo una introducción a la experimentación.

Por último, me gustaría agradecer a mi tutor Alfonso Abecia todo su tiempo invertido y todos los conocimientos compartidos, tanto relacionados con la melatonina, el uso de hormonas, la producción y la fisiología ovinas así como relacionados con la realización del trabajo, la revisión bibliográfica y su disponibilidad para atender cualquier tipo de duda existente desde el primer momento.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abecia Martínez, A. and Forcada Miranda, F., 2010. Manejo reproductivo en ganado ovino. Zaragoza: Servet editorial - Grupo Asís Biomedica S.L.
- Abecia, J.A., Forcada, F., González-Bulnes, A., 2012. Hormonal control of reproduction in small ruminants. *Anim. Reprod. Sci.*, Special issue: Reproductive Health Management of Sheep and Goats 130, 173–179. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.01.011>
- Abecia, J.A., Forcada, F., Zúñiga, O., 2002. The effect of melatonin on the secretion of progesterone in sheep and on the development of ovine embryos. *Vet. Res. Commun.* 26, 151–8. <https://doi.org/10.1023/A:1014099719034>
- Abecia, J.A., Palacín, I., Forcada, F., Valares, J.A., 2006. The effect of melatonin treatment on the ovarian response of ewes to the ram effect. *Domest. Anim. Endocrinol.* 31, 52–62.
- Abecia, J.A., Valares, J.A., Forcada, F., Palacín, I., Martín, S., Martino, A., 2007. The effect of melatonin on the reproductive performance of three sheep breeds in Spain. *Small Rumin. Res.* 10–16.
- Abella, F., Héctor, D., 2011. Pérdidas embrionarias y fetales en ovinos en Uruguay.
- Acritopoulou-Fourcroy, S., Pappas, V., Peclaris, G., Zervas, N., Skoufis, V., 1982. Synchronization of oestrus in ewes with Provera sponges/PMSG, prostaglandin F2 $\alpha$  or the prostaglandin analogue, ICI 80996, and fertility following natural mating or artificial insemination. *Reprod. Nutr. Dév.* 22, 345–354. <https://doi.org/10.1051/rnd:19820305>
- AEMPS. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (2021). *Ficha Técnica de Melovine*. Madrid: AEMPS. Disponible en: [https://cimavet.aemps.es/cimavet/pdfs/es/ft/1274+ESP/FT\\_1274+ESP.pdf](https://cimavet.aemps.es/cimavet/pdfs/es/ft/1274+ESP/FT_1274+ESP.pdf) [Consultado: 06-06-2022]
- AESLA. *Asociación Española de Criadores de Ovino Selecto Raza Lacaune (2018)*. Disponible en: <http://www.lacaune.es> [Consultado 02-04-2022].

- Arendt, J., 1998. Melatonin and the pineal gland: influence on mammalian seasonal and circadian physiology. *Rev. Reprod.* 3, 13–22. <https://doi.org/10.1530/ror.0.0030013>
- Babo, D., 2000. Races ovines et caprines françaises. France Agricole Editions.
- Baird t, Scaramuzzi D. J., R., 1975. Prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  and luteal regression in the ewe : comparison with 16 aryloxyprostaglandin (I. C. I. 80, 996). *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.* 15, 161–174.
- Baker, J.R., Ranson, R.M., Goodrich, E.S., 1932. Factors affecting the breeding of the field mouse (*Microtus agrestis*). Part I.—Light. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B Contain. Pap. Biol. Character* 110, 313–322. <https://doi.org/10.1098/rspb.1932.0027>
- Bister, J.-L., Noël, B., Perrad, B., Mandiki, S.N.M., Mbayahaga, J., Paquay, R., 1999. Control of ovarian follicles activity in the ewe. *Domest. Anim. Endocrinol.* 17, 315–328. [https://doi.org/10.1016/S0739-7240\(99\)00047-8](https://doi.org/10.1016/S0739-7240(99)00047-8)
- Cahill, L.P., Mariana, J.C., Mauleon, P., 1979. Total follicular populations in ewes of high and low ovulation rates. *Reproduction* 55, 27–36. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0550027>
- Cohen-Tannoudji, J., Signoret, J.P., 1987. Effect of short exposure to the ram on later reactivity of anoestrous ewes to the male effect. *Anim. Reprod. Sci.* 13, 263–268. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(87\)90063-7](https://doi.org/10.1016/0378-4320(87)90063-7)
- Contreras-Solis, I., Diaz, T., Lopez, G., Caigua, A., Lopez-Sebastian, A., Gonzalez-Bulnes, A., 2008. Systemic and intraovarian effects of corpus luteum on follicular dynamics during estrous cycle in hair breed sheep. *Anim. Reprod. Sci.* 104, 47–55. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2007.01.021>
- Correa, L.M., Fernández, J.L., 2017. Influencia de la Melatonina sobre la fisiología y la conducta de ungulados. *Rev. Investig. Altoandinas* 19, 337–350. <https://doi.org/10.18271/ria.2017.298>
- Delgadillo, J.A., Gelez, H., Ungerfeld, R., Hawken, P.A.R., Martin, G.B., 2009. The ‘male effect’ in

sheep and goats—Revisiting the dogmas. *Behav. Brain Res.* 200, 304–314.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.02.004>

Deng, S.-L., Wang, Z.-P., Jin, C., Kang, X.-L., Batool, A., Zhang, Y., Li, X.-Y., Wang, X.-X., Chen, S.-R., Chang, C.-S., Cheng, C.Y., Lian, Z.-X., Liu, Y.-X., 2018. Melatonin promotes sheep Leydig cell testosterone secretion in a co-culture with Sertoli cells. *Theriogenology* 106, 170–177. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.10.025>

Driancourt, M.A., Gibson, W.R., Cahill, L.P., 1985. Follicular dynamics throughout the oestrous cycle in sheep. A review. *Reprod. Nutr. Dév.* 25, 1–15.  
<https://doi.org/10.1051/rnd:19850101>

Fierro, S., Gil, J., Viñoles, C., Olivera-Muzante, J., 2013. The use of prostaglandins in controlling estrous cycle of the ewe: A review. *Theriogenology* 79, 399–408.  
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.10.022>

Fierro, S., Olivera-Muzante, J., Gil, J., Viñoles, C., 2011. Effects of prostaglandin administration on ovarian follicular dynamics, conception, prolificacy, and fecundity in sheep. *Theriogenology* 76, 630–639.  
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.03.016>

Folch, F. (1990). “Utilización práctica del “efecto macho” para la provocación de celos y ovulaciones en ganado ovino.” *Revista de la Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario (Vol. 3)*, pp. 145-163.

Forcada, F., Abecia, A., n.d. INFLUENCIA DEL FOTOPERIODO SOBRE LA ACTIVIDAD REPRODUCTIVA DE LA OVEJA. LA MELATONINA COMO HERRAMIENTA DE CONTROL DE LA REPRODUCCIÓN 10.

Forcada, F., Abecia, J.A., Gonzalez-Bulnes, A., 2013. INFLUENCIA DEL FOTOPERIODO SOBRE LA ACTIVIDAD REPRODUCTIVA DE LA OVEJA. LA MELATONINA COMO HERRAMIENTA DE CONTROL DE LA REPRODUCCIÓN.

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.  
<https://doi.org/10.1071/ar00172>

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 anestrus. *Theriogenology* 43, 1179–1193.  
[https://doi.org/10.1016/0093-691X\(95\)00090-U](https://doi.org/10.1016/0093-691X(95)00090-U)

Gamarra Lazo, G., 2016. *GENETICA OVINA FRANCESA* 203, 34.

Garde, J., Pérez-Guzmán, M., Pérez Garnelo, S., Garzón, A., Angulo, V., 1996. Características seminales de corderos de raza manchega tratados con implantes de melatonina. *Arch. Zootec.* ISSN 0004-0592 Vol 45 N° 172 1996 Pags 395-401.

Gelez, H., Fabre-Nys, C., 2004. The “male effect” in sheep and goats: a review of the respective roles of the two olfactory systems. *Horm. Behav.* 46, 257–271.  
<https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2004.05.002>

Godfrey, R.W., Collins, J.R., Hensley, E.L., Wheaton, J.E., 1999. Estrus synchronization and artificial insemination of hair sheep ewes in the tropics. *Theriogenology* 51, 985–997.  
[https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(99\)00044-8](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00044-8)

Godfrey, R.W., Gray, M.L., Collins, J.R., 1998. The effect of ram exposure on uterine involution and luteal function during the postpartum period of hair sheep ewes in the tropics. *J. Anim. Sci.* 76, 3090. <https://doi.org/10.2527/1998.76123090x>

Godfrey, R.W., Gray, M.L., Collins, J.R., 1997. A comparison of two methods of oestrous synchronisation of hair sheep in the tropics. *Anim. Reprod. Sci.* 47, 99–106.  
[https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(97\)00007-9](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(97)00007-9)

González-Arto, M., Aguilar, D., Gaspar-Torrubia, E., Gallego, M., Carvajal-Serna, M., Herrera-Marcos, L.V., Serrano-Blesa, E., Hamilton, T.R.D.S., Pérez-Pé, R., Muiño-Blanco, T., Cebrián-Pérez, J.A., Casao, A., 2017. Melatonin MT<sub>1</sub> and MT<sub>2</sub> Receptors in the Ram Reproductive Tract. *Int. J. Mol. Sci.* 18, E662. <https://doi.org/10.3390/ijms18030662>

- Gonzalez-Bulnes, A., Contreras S., I., Abecia, J.A., Forcada, F., 2013. METODOS DE CONTROL DEL CICLO SEXUAL EN LA OVEJA.
- Hawken, P.A.R., Esmaili, T., Scanlan, V., Blache, D., Martin, G.B., 2009. Can audio–visual or visual stimuli from a prospective mate stimulate a reproductive neuroendocrine response in sheep? *Animal* 3, 690–696. <https://doi.org/10.1017/S1751731109003954>
- Kanematsu, N., Mori, Y., Hayashi, S., Hoshino, K., 1989. Presence of a distinct 24-hour melatonin rhythm in the ventricular cerebrospinal fluid of the goat. *J. Pineal Res.* 7, 143–152. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079x.1989.tb00662.x>
- Knight, T.W., Lynch, P.R., 1980. Source of ram pheromones that stimulate ovulation in the ewe. *Anim. Reprod. Sci.* 3, 133–136. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(80\)90040-8](https://doi.org/10.1016/0378-4320(80)90040-8)
- Korf, H.-W., 2018. Signaling pathways to and from the hypophysial pars tuberalis, an important center for the control of seasonal rhythms. *Gen. Comp. Endocrinol., Recent Advances in Comparative Endocrinology - 28th Conference of European Comparative Endocrinologists* 258, 236–243. <https://doi.org/10.1016/j.yggen.2017.05.011>
- Lee, B.H., Hille, B., Koh, D.-S., 2021. Serotonin modulates melatonin synthesis as an autocrine neurotransmitter in the pineal gland. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 118, e2113852118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2113852118>
- Lerner, A.B., Case, J.D., Takahashi, Y., Lee, T.H., Mori, W., 1958. ISOLATION OF MELATONIN, THE PINEAL GLAND FACTOR THAT LIGHTENS MELANOCYTES <sup>1</sup>. *J. Am. Chem. Soc.* 80, 2587–2587. <https://doi.org/10.1021/ja01543a060>
- Light, J.E., Silvia, W.J., Reid, R.C., 1994. Luteolytic effect of prostaglandin F2 alpha and two metabolites in ewes. *J. Anim. Sci.* 72, 2718–2721. <https://doi.org/10.2527/1994.72102718x>
- Malpoux, B., Daveau, A., Maurice-Mandon, F., Duarte, G., Chemineau, P., 1998. Evidence that melatonin acts in the premammillary hypothalamic area to control reproduction in the ewe: presence of binding sites and stimulation of luteinizing hormone secretion by in

- situ microimplant delivery. *Endocrinology* 139, 1508–1516.  
<https://doi.org/10.1210/endo.139.4.5879>
- Malpaux, B., Migaud, M., Tricoire, H., Chemineau, P., 2001. Biology of Mammalian Photoperiodism and the Critical Role of the Pineal Gland and Melatonin. *J. Biol. Rhythms* 16, 336–347. <https://doi.org/10.1177/074873001129002051>
- Malpaux, B., Vigué, C., Skinner, D.C., Thiéry, J.C., Chemineau, P., 1997. Control of the Circannual Rhythm of Reproduction by Melatonin in the Ewe. *Brain Res. Bull.* 44, 431–438.  
[https://doi.org/10.1016/S0361-9230\(97\)00223-2](https://doi.org/10.1016/S0361-9230(97)00223-2)
- McCRACKEN, J.A., Glew, M.E., Scaramuzzp, R.J., 1970. Corpus Luteum Regression Induced by Prostaglandin  $F_{2\alpha}$ . *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 30, 544–546.  
<https://doi.org/10.1210/jcem-30-4-544>
- McEvoy, T.G., Robinson, J.J., Aitken, R.P., Robertson, I.S., 1998. Melatonin treatment of embryo donor and recipient ewes during anestrus affects their endocrine status, but not ovulation rate, embryo survival or pregnancy. *Theriogenology* 49, 943–955.  
[https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(98\)00043-0](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(98)00043-0)
- Morgan, P.D., Arnold, G.W., Lindsay, D.R., 1972. A NOTE ON THE MATING BEHAVIOUR OF EWES WITH VARIOUS SENSES IMPAIRED. *Reproduction* 30, 151–152.  
<https://doi.org/10.1530/jrf.0.0300151>
- Murtagh, J.J., Gray, D.R., Lindsay, D.R., Oldham, C.M., 1984. The influence of the “ram effect” in 10–11 month-old Merino ewes on their subsequent performance when introduced to rams again at 15 months of age. *Proc. Aust., Soc. Anim. Prod.*, 15: 490-493.
- Oldham, C.M., Cognie, Y., 1980. Do ewes continue to cycle after teasing?  
<http://www.asap.asn.au/livestocklibrary/1980/Oldham80.PDF>.
- Parr, R.A., 1992. Nutrition-progesterone interactions during early pregnancy in sheep. *Reprod. Fertil. Dev.* 4, 297–300. <https://doi.org/10.1071/rd9920297>
- Pearce, G.P., Oldham, C.M., 1988. Importance of non-olfactory ram stimuli in mediating ram-induced ovulation in the ewe. *Reproduction* 84, 333–339.

<https://doi.org/10.1530/jrf.0.0840333>

Pelletier, J.P., Bodin, L.L., Hanocq, E., Malpoux, B., Teyssier, J., Thimonier, J., Chemineau, P., 2000. Association between expression of reproductive seasonality and alleles of the gene for Mel 1a receptor in the ewe. *Biol. Reprod.* 62, 1096–1101.

Perkins, A., Fitzgerald, J.A., 1992. Luteinizing hormone, testosterone, and behavioral response of male-oriented rams to estrous ewes and rams<sup>1</sup>. *J. Anim. Sci.* 70, 1787–1794. <https://doi.org/10.2527/1992.7061787x>

Pierson, R.A., Ginther, O.J., 1986. Ovarian follicular populations during early pregnancy in heifers. *Theriogenology* 26, 649–659. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(86\)90173-1](https://doi.org/10.1016/0093-691X(86)90173-1)

Pool, K.R., Rickard, J.P., Pini, T., de Graaf, S.P., 2020. Exogenous melatonin advances the ram breeding season and increases testicular function. *Sci. Rep.* 10, 9711. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-66594-6>

Pulinas, L., Cosso, G., Mura, M.C., Carvajal-Serna, M., Ouled Ahmed, H., Carcangiu, V., Luridiana, S., 2021. Effect of Body Condition Score, Treatment Period and Month of the Previous Lambing on the Reproductive Resumption of Melatonin-Treated Sarda Breed Sheep during Spring. *Animals* 11, 1898. <https://doi.org/10.3390/ani11071898>

Reiter, R.J., Mayo, J.C., Tan, D.-X., Sainz, R.M., Alatorre-Jimenez, M., Qin, L., 2016. Melatonin as an antioxidant: under promises but over delivers. *J. Pineal Res.* 61, 253–278. <https://doi.org/10.1111/jpi.12360>

Revel, F., Ansel-Bollepalli, L., Klosen, P., Saboureau, M., Pevet, P., Mikkelsen, J., Simonneaux, V., 2007. Kisspeptin: A key link to seasonal breeding. *Rev. Endocr. Metab. Disord.* 8, 57–65. <https://doi.org/10.1007/s11154-007-9031-7>

Robinson, J., Karsch, F., 1984. Refractoriness to Inductive Day Lengths Terminates the Breeding Season of the Suffolk Ewe. *Biol. Reprod.* 31, 656–63. <https://doi.org/10.1095/biolreprod31.4.656>

Rubianes, E., Menchaca, A., Carbajal, B., 2003. Response of the 1–5 day-aged ovine corpus

luteum to prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$ . *Anim. Reprod. Sci.* 78, 47–55.  
[https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(03\)00046-0](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(03)00046-0)

Scaramuzzi, R.J., Downing, J.A., 1997. The distribution of ovulations from the ovaries of Merino and Border Leicester  $\times$  Merino ewes and its effect on the survival of their embryos. *Anim. Reprod. Sci.* 47, 327–336. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(97\)00012-2](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(97)00012-2)

Shaw, P.F., Kennaway, D.J., Seamark, R.F., 1989. Evidence of high concentrations of melatonin in lateral ventricular cerebrospinal fluid of sheep. *J. Pineal Res.* 6, 201–208.  
<https://doi.org/10.1111/j.1600-079x.1989.tb00416.x>

Smith, M.F., Geisert, R.D., Parrish, J.J., 2018. Reproduction in domestic ruminants during the past 50 yr: discovery to application. *J. Anim. Sci.* 96, 2952–2970.  
<https://doi.org/10.1093/jas/sky139>

Sweeney, T., Donovan, A., Karsch, F.J., Roche, J.F., O'Callaghan, D., 1997. Influence of Previous Photoperiodic Exposure on the Reproductive Response to a Specific Photoperiod Signal in Ewes<sup>1</sup>. *Biol. Reprod.* 56, 916–920. <https://doi.org/10.1095/biolreprod56.4.916>

UPRA Lacaune. 2022. *Accueil - UPRA Lacaune*. Disponible en: <https://www.race-lacaune.fr> [Consultado 06-04-2022].

Uribe-Velásquez, L.F., Correa-Orozco, A., Osorio, J.H., 2009. Características del crecimiento folicular ovárico durante el ciclo estral en ovejas. *Biosalud* 8, 117–131.

Vielma Sifuentes, J., 2006. El comportamiento sexual, las vocalizaciones y el olor del macho cabrío estimulan la secreción de LH, el estro y la ovulación en las cabras sometidas al efecto macho.

Viguie, C., Caraty, A., Locatelli, A., Malpoux, B., 1995. Regulation of luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) secretion by melatonin in the ewe. I. Simultaneous delayed increase in LHRH and luteinizing hormone pulsatile secretion. *Biol. Reprod.* 52, 1114–1120. <https://doi.org/10.1095/biolreprod52.5.1114>

Viñoles, C., Rubianes, E., 1998. Origin of the preovulatory follicle after induced luteolysis during

the early luteal phase in ewes. *Can. J. Anim. Sci.* 78, 429–431.  
<https://doi.org/10.4141/A98-015>

White, L.M., Keisler, D.H., Dailey, R.A., Inskeep, E.K., 1987. Characterization of Ovine Follicles Destined to Form Subfunctional Corpora Lutea. *J. Anim. Sci.* 65, 1595–1601.  
<https://doi.org/10.2527/jas1987.6561595x>

Zúñiga, O., Forcada, F., Abecia, J.A., 2002. The effect of melatonin implants on the response to the male and on the subsequent cyclicity of Rasa Aragonesa ewes implanted in April. *Anim. Reprod. Sci.* 72, 165–74. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(02\)00117-3](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(02)00117-3)