



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

ESCUELA DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL



**EFFECTO DE LA SOMBRA SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE
PROGESTERONA DURANTE EL CICLO ESTRAL EN
OVEJAS A PASTOREO**

Mauro D. Herrera B.

Tutora: Livia V. Pinto S.

MARACAY, NOVIEMBRE 2015.



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

ESCUELA DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL



**EFFECTO DE LA SOMBRA SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE
PROGESTERONA DURANTE EL CICLO ESTRAL EN
OVEJAS A PASTOREO**

Mauro D. Herrera B.

Tutora: Livia V. Pinto S.

Trabajo presentado como parte de los requisitos para optar al título de Ingeniero Agrónomo, mención Agronomía, que otorga la Universidad Central de Venezuela.

MARACAY, NOVIEMBRE 2015.

RESUMEN

Con la finalidad de evaluar el efecto de la sombra sobre la concentración de Progesterona (P_4) durante el ciclo estral en ovejas a pastoreo, se realizó un estudio utilizando 20 hembras adultas, las cuales fueron distribuidas al azar en dos tratamientos: SOMBRA: pastoreo de pasto estrella (*Cynodon plectostachyus*) y confinamiento en corrales en las horas de mayor temperatura ambiente y radiación global (12:00 – 14:00) bajo techo de lona y SOL: en condiciones de pastoreo similar al grupo anterior, pero sin disponibilidad de sombra natural o artificial entre las 12:00 y 14:00 horas. Se realizó la caracterización meteorológica del área utilizando estaciones meteorológicas portátiles y termómetros de bulbo negro en cada uno de los potreros, dentro de los corrales de confinamiento, tomando registro de temperatura ambiente (TA; °C), humedad relativa (HR; %) radiación global (Rg; W/m^2), temperatura de globo negro (TGN) y se calculó el índice de temperatura y humedad (ITH) para ambas condiciones. Se estimaron los índices fisiológicos, temperatura corporal (TC), frecuencia respiratoria (FR) y se midieron las concentraciones de cortisol (CORT) y progesterona (P_4) durante 20 días consecutivos. En las variables climáticas, no hubo diferencias significativas entre los valores promedios diarios para TA, HR e ITH ($P>0,05$) pero si para la Rg y la TGN entre los tratamientos ($P<0,01$), siendo estas de $207,8 \pm 286,5 W/m^2$ contra $57,9 \pm 93,0 W/m^2$ y $45,3 \pm 2,8 ^\circ C$ contra $37,0 \pm 1,9 ^\circ C$ en SOL y SOMBRA respectivamente. Los índices fisiológicos, TC ($39,4 \pm 0,17 ^\circ C$ y $39,3 \pm 0,10 ^\circ C$) y FR ($139,6 \pm 4,6$ contra $112,3 \pm 3,0$ mov/min) fueron mayores en SOL que en SOMBRA ($P<0,01$). Las concentraciones de CORT no mostraron diferencias estadísticas entre los tratamientos ($P>0,05$), mientras que los niveles séricos de P_4 acumulada durante el ciclo estral fueron mayores en SOL $108,58 \pm 4,8$ ng/mL que en SOMBRA $73,64 \pm 2,7$ ng/mL.

Palabras Claves: Progesterona, Cortisol, Ciclo estral, Radicación global, Sombra.

VEREDICTO

Aprobación del Trabajo de Grado por el Jurado

Nosotros los abajo firmantes, miembros del jurado examinador del trabajo de grado titulado “EFECTO DE LA SOMBRA SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE PROGESTERONA DURANTE EL CICLO ESTRAL EN OVEJAS A PASTOREO” Cuyo autor es el bachiller Mauro Herrera, titular de la cédula de identidad número: 20090274, certificamos que en nuestra opinión el trabajo reúne las condiciones requeridas para su presentación y cumple con las expectativas en alcance y calidad como requisito para optar al título de Ingeniero Agrónomo.

Jurado Principal

Karin Drescher

CI: 6.298.914

Jurado Principal

D’Endel D’Enjoy

CI: 11.834.581

Tutora-Coordinadora

Livia Pinto-Santini

CI:13.517.563

DEDICATORIA

A mi mamá, por inculcarme el hábito de estudiar y dar siempre lo mejor de mí y a quien doy gracias por apoyarme, a pesar de las dificultades.

A mi papá, que a pesar de que a muy corta edad tuviste que partir, fuiste un gran ejemplo a seguir y sé que desde el cielo celebras cada una de las metas logradas a lo largo de mi vida.

A Rafael Bello (Rafucho), porque gracias a ti aprendí del campo y te debo la pasión que siento cada vez que me desenvuelvo en el ámbito agropecuario. Sé que en vida estarías orgulloso de lo que he logrado hasta ahora.

AGRADECIMIENTOS

A mis hermanas, por el apoyo incondicional durante toda mi carrera, especialmente a Mary Francis (Catira), sé que sin tu apoyo hubiese sido difícil lograrlo.

A la familia Raimond Toro, por permitirme formar parte de ella y de quien me siento orgulloso de pertenecer, a ustedes mil gracias por “adoptarme” con tanto cariño.

A mis amigos “Chigüires” que forman parte esencial de mi vida, no imagino la vida universitaria sin cada uno de ustedes. A cada uno de ustedes gracias. Sé que tendrán mucho éxito a lo largo de su vida profesional, tienen con qué y se lo merecen.

A Nancy Omaña, por su apoyo durante esta fase de mi vida, primero como amiga y ahora como novia. Los últimos pasos que he dado en mi trabajo de grado, en gran medida han dependido de tu apoyo.

A mis profesores de la Cátedra de Climatología Agrícola, en especial a la profesora Naghely Mendoza, siempre los tengo presentes y me siento orgulloso de haber formado parte de la “Mejor Cátedra de Ingeniería”.

A mi tutora Livia Pinto, quien me enamoro aún más de la rama de la producción animal y quien me ha ayudado a cumplir con la meta planteada. Gracias por soportarme en mis momentos de necesidad. Es usted la mejor tutora que alguien puede tener.

Al equipo del LEFADOT, Inés, Jesús, Delfin, Profa. Karin, Prof.D’Endel, quienes me ayudaron en el desarrollo de mi trabajo de grado, gracias a ustedes pude lograrlo.

A todos aquellos profesores que me incentivaron a seguir adelante, a quienes admiro y respeto por sobre todas las cosas, son los mejores en lo que hacen, por siempre les estaré agradecido, sigan así: Aida Ortiz, Humberto Araque, Rosaura Isturiz, Selina Camacaro, Juan Carlos Rey, Martha Barrios, Helen Pérez Pivat, Quintina Correa, Maritza Romero, Xiomara Abreu, Miguel Benezra, Yudeisy Rondón, Francisca Sosa, Petra Madriz, Oscar Silva, Rosmar Narcise, Alecio Solórzano(†) y demás profesores de la FAGRO, son ustedes los encargados de seguir sembrando en cada estudiante las ganas de dar cada día lo mejor de sí, para lograr una mejor UCV y una mejor Venezuela.

TABLA DE CONTENIDO

| | |
|--|------------|
| Portada..... | i |
| Página de título..... | ii |
| Resumen..... | iii |
| Aprobación del jurado..... | iv |
| Dedicatoria..... | v |
| Agradecimientos..... | vi |
| Tabla de contenido..... | vii |
| Índice de Figuras..... | ix |
| Índice de Cuadros..... | x |
| | |
| I. INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| II. MATERIALES Y MÉTODOS..... | 4 |
| 1. Ubicación y duración del experimento | 4 |
| 2. Manejo del Rebaño..... | 4 |
| 3. Protocolo de Sincronización de Celo..... | 4 |
| 4. Tratamientos y diseño de experimentos..... | 5 |
| 5. Variables Evaluadas..... | 6 |
| 5.1.1 Variables meteorológicas del área de experimentación..... | 6 |
| 5.2.1 Frecuencia respiratoria (FR) y temperatura corporal (TC)..... | 6 |
| 5.2.2 Concentración de cortisol (CORT) y progesterona (P₄)..... | 7 |
| 6. Análisis Estadístico..... | 8 |
| III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 9 |
| 1.1 Caracterización de las condiciones meteorológicas del área de experimentación.. | 9 |
| 2.1 Variables Fisiológicas..... | 13 |
| 2.1.1 Frecuencia respiratoria (FR)..... | 13 |
| 2.1.2 Temperatura Corporal (TC)..... | 14 |

| | |
|--|-----------|
| 2.2.1 Concentración sérica de Cortisol (CORT)..... | 15 |
| 2.2.2 Concentración sérica de Progesterona (P₄)..... | 17 |
| IV. CONCLUSIONES..... | 21 |
| V. RECOMENDACIONES..... | 23 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 24 |

INDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Protocolo de sincronización experimental con doble dosis luteolítica de Cloprostenoly dosis única de Acetato de Buserelina..... | 5 |
| Figura 2. Radiación global (W/m ²) (a), Temperatura ambiente (°C) (b), Humedad relativa (%) (c), e Índice de temperatura y humedad (d) media diaria (00:00- 24:00 h) y Radiación global (W/m ²) (e) Temperatura ambiente (°C) (f), humedad relativa (%) (g), e índice de temperatura y humedad (h) media diaria durante el confinamiento (12:00 – 14:00 horas) en los tratamientos SOL y SOMBRA..... | 11 |
| Figura 3. Temperatura corporal (°C) (a) y Frecuencia Respiratoria (mov/min) (b) media diaria durante el ensayo en los tratamientos SOL y SOMBRA..... | 15 |
| Figura 4. Concentración promedio de Cortisol (ng/mL), durante el periodo de acostumbramiento y experimental total en SOL y SOMBRA..... | 16 |
| Figura 5. Concentración de Progesterona (ng/mL), a partir de la segunda inyección de Cloprostenol..... | 18 |

INDICE DE CUADROS

| | |
|--|----|
| Cuadro 1. Medias (\pm DE) diarias y durante el periodo de 12:00 a 14:00 horas de los elementos climáticos e ITH evaluados en los tratamientos SOL y SOMBRA..... | 9 |
| Cuadro 2. Medias (\pm DE) de temperatura de globo negro a las 12:00, 13:00 y 14:00 horas en los tratamientos SOL y SOMBRA..... | 12 |

I. INTRODUCCION

En las próximas décadas se espera un incremento en la demanda de la producción de alimentos a nivel mundial. Lo anterior supone que uno de los principales desafíos de la humanidad es tratar de garantizar la seguridad alimentaria de la población humana (Roca, 2011). En paralelo el cambio climático, compromete el alcance de las metas debido a los efectos sobre la producción vegetal, así como animal.

Los ovinos, como otros animales homeotermos y/o endotermos, tienen la capacidad de regular su temperatura corporal para mantenerla, dentro rangos fisiológicos, cuando se encuentran en condiciones ambientales termoneutrales o de bienestar térmico (Fraser y Broom, 1997), sin embargo, cuando éstos son sometidos a temperaturas ambientales superiores a las definidas en estos rangos, responden mediante diferentes mecanismos de disipación de calor, tanto sensibles como insensibles o evaporativos que, cuando son insuficientes, provocan incrementos en la temperatura corporal, ocasionando estrés térmico o calórico (Chemineau, 1992). En condiciones tropicales, la temperatura ambiente, la humedad relativa y radiación global pueden presentarse elevadas la mayor parte del año, por lo que podrían generarse situaciones de estrés calórico que pueden explicar, al menos en parte, el bajo desempeño productivo y reproductivo de la mayoría de las especies de interés zootécnico en la zona (Arias, 2008; FAO, 2009) y en particular en algunos rebaños de pequeños y grandes rumiantes manejados a pastoreo.

Los efectos del estrés calórico sobre la producción animal han sido ampliamente reconocidos. En grandes y pequeños rumiantes se ha observado, disminución en el consumo de alimento (West, 2003), baja tasa de crecimiento, reducción en la producción de leche (Fuguay, 1981; Nonaka *et al.*, 2008), incremento en la susceptibilidad a las enfermedades (West, 1992) y fallas reproductivas (Vélez y Uribe-Velásquez, 2010). Con respecto a las fallas reproductivas, algunos autores señalan que el estrés calórico se asocia con aumentos en la mortalidad embrionaria (Hansen y Arechiga, 1999), alteraciones en la dinámica folicular y en el desarrollo del cuerpo lúteo afectando la producción de progesterona (Uribe *et al.*, 1998; Vélez y Uribe-Velásquez, 2010).

La concentración de progesterona durante el ciclo estral de la hembra está claramente estudiada en todas las especies animales, incluida la mujer. Sin embargo, estudios para evaluar su concentración pueden suministrar información reproductiva de

interés, sobre todo para determinar la ciclicidad y/o gestación de hembras en edad reproductiva. Dentro de las funciones de la progesterona se encuentran estimular el instinto materno, la implantación embrionaria, el mantenimiento de la preñez (Barrera, 2007) entre otras. En hembras cíclicas, sus niveles incrementan en el diestro y disminuyen en el proestro y estro (Ramírez, 2006).

Estudios en vacas lecheras asocian las bajas concentraciones de progesterona con fallas en la concepción, por el efecto de la misma sobre el desarrollo embrionario y además porque sus bajos niveles pueden dificultar el reconocimiento materno de la gestación a nivel uterino. En este sentido, al haber menos progesterona, el desarrollo del embrión será más lento y/o por otra parte, los mecanismos que inician la secreción pulsátil de prostaglandina $F_2\alpha$ ($PGF_2\alpha$) podrían debido a la relación anormal entre progesterona y estradiol (Lamming y Mann, 1995). El efecto del estrés calórico sobre los niveles de progesterona en ovinos ha sido poco estudiado, los reportes son contradictorios, incluso en vacas (Rodríguez *et al.*, 2009). En este sentido, Uribe-Velásquez *et al.* (2001) y Rodríguez *et al.* (2009) plantean que dicho estrés no tiene efectos sobre las concentraciones de progesterona. Sin embargo, Ponce *et al.* (1978), reportan niveles elevados de esta hormona en vacas lecheras en condiciones de estrés térmico, mientras que Hill y Alliston (1981) observaron una disminución en los niveles plasmáticos de progesterona en ovejas bajo igual condición.

Conociendo los efectos nocivos del estrés por calor sobre los animales, diversas alternativas se han propuesto para minimizar el impacto de este sobre las variables productivas, reproductivas y de salud en los mismos. En condiciones de pastoreo, tanto de grandes como pequeños rumiantes, el suministro de sombra pudiera ser una estrategia de manejo que minimice el impacto del estrés térmico, al representar un lugar de resguardo durante las horas más calurosas del día, mitigando los efectos ambientales negativos generados por la alta carga radiante y mejorando el bienestar de los animales (Navas, 2010; Pinto-Santini *et al.*, 2014). Estudios preliminares del efecto del uso de la sombra sobre la edad a la pubertad en borregas West African, medida a través de los cambios en las concentraciones de progesterona, no mostraron efectos de la disponibilidad de sombra artificial sobre esta variable (Pigliacampo, 2014); sin embargo, este autor reportó valores elevados de progesterona, de difícil explicación biológica en animales pre-púberes, en cinco del grupo sin acceso a sombra y dos en el grupo con sombra, por lo que estudios sobre los efectos de los elementos climáticos, entre ellos la radiación global, sobre la secreción de esta hormona son necesarios.

El presente trabajo tiene como objetivo general, determinar el efecto de la sombra sobre la concentración de progesterona durante el ciclo estral en ovejas a pastoreo, teniendo como objetivos específicos:

- 1) Caracterizar las condiciones meteorológicas de la zona de estudio a través de los elementos climáticos, radiación global, temperatura del aire, temperatura del globo negro, humedad relativa, e índice de temperatura y humedad en las condiciones de sol y sombra.
- 2) Cuantificar los parámetros fisiológicos, frecuencia respiratoria y temperatura corporal en las horas de mayor radiación global como indicadores fisiológicos de estrés térmico en los animales.
- 3) Determinar el efecto del uso de sombra en horas de mayor radiación global sobre la concentración sérica de cortisol en ovejas West African en condiciones de pastoreo.
- 4) Determinar la correlación lineal simple entre los elementos climáticos y las concentraciones de cortisol en ovejas adultas de la raza West African en condiciones de pastoreo.
- 5) Determinar el efecto del uso de sombra en las horas de mayor radiación global, sobre la concentración sérica de progesterona durante el ciclo estral en ovejas adultas de la raza West African en condiciones de pastoreo.

II. MATERIALES Y METODOS

1. Ubicación y duración del experimento

El ensayo se realizó en el Laboratorio Sección Ovinos del Instituto de Producción Animal (IPA), de la Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela, situado en El Limón, Maracay, Estado Aragua, localizado a 455 msnm, presentando un clima predominante de Bosque Seco Tropical (Holdridge, 1979), con una precipitación de 600 a 800 mm anuales, concentrados entre los meses de mayo a octubre. La temperatura promedio del aire es de 26,5 °C, con mínimas de 21 °C y máximas de 32 °C, mientras que la humedad relativa es de 60% y 80% en los meses secos y húmedos respectivamente (USICLIMA, 2012). El ensayo tuvo una duración de 35 días, entre los meses de Abril y Mayo del año 2015 y contó con un periodo de acostumbramiento representado por los primeros 12 días del experimento y 20 días de muestreo para determinaciones de parámetros fisiológicos y hormonales.

2. Manejo del Rebaño

Se utilizaron 20 ovejas adultas vacías de la raza West African con edad máxima de cinco años y de tres o más partos. El manejo de los animales fue en semi-estabulación, con pastoreo continuo de pasto estrella (*Cynodon plectostachyus*) y agua *ad libitum* en las horas del día (8:00 y 15:00) y confinamiento en corrales consumiendo pacas de heno, alimento concentrado 16 % PC y suplementación mineral el resto del tiempo (15:00 a 8:00 horas). En el periodo comprendido entre las 12:00 y 14:00 horas, los animales fueron trasladados, a corrales diseñados para la aplicación de los tratamientos, a pequeños corrales de 30 m² ubicados a un extremo de cada potrero. Durante este tiempo, los animales disponían de agua para bebida y pacas de heno a voluntad.

3. Protocolo de Sincronización de celo

Con la finalidad de sincronizar el ciclo estral de las ovejas para la determinación de las concentraciones de progesterona, las mismas fueron sometidas al siguiente protocolo: aplicación de una dosis luteolíticas de Vetaglan (Cloprostenol, análogo de prostaglandina F₂α; 1mL por animal; 75 µg/mL) el día cero (0) y doce (12) del experimento y una aplicación de Conceptal (Acetato de Buserelina, análogo de la

hormona liberadora de gonadotropinas o GnRH; 1 mL por animal; 100 µg/mL) el día diez del ensayo (Figura 1).

La aplicación de la doble dosis de Vetaglan tuvo como objetivo inducir la regresión del cuerpo lúteo, al disminuir el riego sanguíneo hacia el mismo para lograrla apoptosis celular, e inducir la permanencia de folículos dominantes que posteriormente lograrían ovular, siendo que, si en la primera inyección este efecto no se lograba, en la segunda, la posibilidad de presencia de cuerpo lúteo activo fuese mayor. Adicionalmente, la aplicación de Conceptal, se realizó con la finalidad de estimular la producción de hormona folículo estimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH), para estimular la maduración final del folículo y su ovulación, así como luteinización de las células de la granulosa y de la teca, generando de esta manera un nuevo cuerpo lúteo (Franco y Uribe-Velásquez, 2012; Lozano *et al.*, 2012).

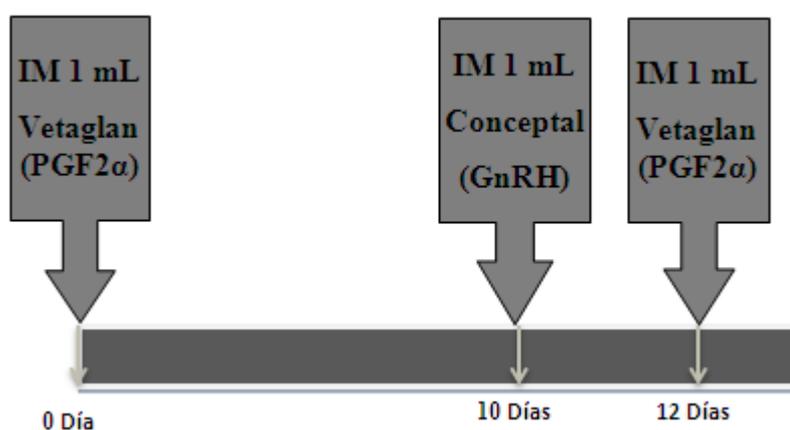


Figura 1. Protocolo de sincronización experimental con doble dosis luteolítica de Cloprostenol y dosis única de Acetato de Buserelina.

4. Diseño del experimentos.

Las ovejas fueron asignadas, bajo un diseño completamente aleatorizado, a dos grupos o tratamientos (SOMBRA Y SOL, respectivamente). En el tratamiento SOMBRA (n=10), los animales fueron trasladados diariamente a un corral techado de 30 m² (3 m²/animal) y mantenidos bajo sombra entre las 12:00 y 14:00 horas, siendo éstas de mayor radiación global en la zona, según estudios anteriores (López *et al.*, 2015). El techo fue elaborado con malla para sombreadero color verde y fue dispuesto en sentido Este-Oeste. En el tratamiento SOL (n=10), similar al grupo de SOMBRA, los animales eran trasladados a un corral de la misma dimensión (30 m²) y por el mismo

periodo de tiempo (12:00 a 14:00 horas) pero sin disponibilidad de sombra natural o artificial.

5. Variables evaluadas

5.1.1. Variables meteorológicas del área de experimentación

La caracterización de los elementos climáticos se llevó a cabo mediante registro horario de las variables, radiación global (W/m^2), temperatura del aire ($^{\circ}C$) y humedad relativa (%) medidas a través de sensores electrónicos instalados a las estaciones meteorológicas automáticas que fueron colocadas en los potreros donde permanecieron los animales durante el estudio. En el caso del tratamiento SOMBRA, la estación meteorológica fue colocada bajo el techo para determinar las características de los elementos climáticos en las condiciones predominantes bajo sombra. También se determinó la temperatura de globo negro a las 12:00, 13:00 y 14:00 horas, mediante la utilización de dos termómetros de bulbo negro, que integran el efecto de la radiación neta, la temperatura del aire y la velocidad del viento, para cuantificar el intercambio de energía radiante de los animales situados en los tratamientos. Estos termómetros, uno para SOL y otro para SOMBRA, fueron fabricados previamente de acuerdo con la metodología planteada por Souza *et al.* (2002) con la utilización de una esfera de Policloruro de Vinilo (PVC) de 15 cm de diámetro, pintada con pintura negra mate a la cual se le introdujo de un termómetro de mercurio marca Brand (-20 a $250^{\circ}C$; $0,1^{\circ}C$ de precisión) hasta la parte central de la esfera.

Adicionalmente, se calculó el índice de temperatura y humedad (ITH) por hora, mediante la fórmula planteada por Valtora y Gallardo (1996), donde:

$$ITH = (1,8 TA + 32) - (0,55 - 0,55 HR/100) \times (1,8 TA - 26).$$

TA: Temperatura Ambiente ($^{\circ}C$)

HR: Humedad Relativa (%)

5.2. Variables Fisiológicas.

5.2.1. Frecuencia respiratoria (FR) y temperatura corporal (TC).

La medición de la FR y TC se realizó las 14:00 horas, es decir, luego de la aplicación de los tratamientos. La FR fue calculada observando el número de

expansiones costo-abdominales durante 60 segundos, con la utilización de un cronometro digital a una distancia prudencial de los animales y siempre antes de la captura, bajo condiciones de manejo bondadoso para la determinación de la TC, la cual se realizó con un termómetro digital Testo 110 y una sonda de inmersión/penetración, introducida durante 20 segundos a nivel del recto de los animales a una profundidad aproximada de 5 cm. La FR fue para la determinación de la TC.

5.2.2. Concentración sérica de Cortisol (CORT) y Progesterona (P₄).

Las muestras de sangre para la determinación de CORT y P₄ fueron tomadas diariamente, a nivel de la vena yugular, utilizando para ello tubos de ensayo sin aditivos y jeringas con inyectoras plásticas de 5 mL. La hora de muestreo fue entre las 14:00 y 15:00 horas (durante su permanencia en los corrales), alternando el grupo de inicio de muestreo diariamente, para reducir el error experimental. Las muestras fueron tomadas luego de la determinación de la TC. Posteriormente, las muestras fueron llevadas al Laboratorio de Estudios en Fisiología de los Animales Domésticos en el Trópico (LEFADOT), donde se centrifugaron por 10 min a 3500 rpm para separar el suero de la fracción celular de la sangre. El suero se extrajo con pipetas de 10 µL y se almacenó en viales a una temperatura de -20°C hasta el momento su análisis en el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Veterinaria de la Universidad Central de Venezuela.

La obtención de las muestras para la determinación de la concentración de CORT se realizó con un intervalo de 3 días durante todo el experimento, incluido el periodo de acostumbramiento. Las concentraciones de P₄ se determinaron por 20 días continuos a partir de la segunda inyección del análogo de PGF₂α (día 12 del experimento). En ambos casos la determinación se realizó mediante la metodología de inmunoabsorción unido a enzimas (ELISA), utilizando kits comerciales específicos para la determinación cuantitativa de cortisol y progesterona en suero humano (Cortisol ELISA y Progesterone ELISA; DRG Instruments GmbH Germany®, respectivamente). Los coeficientes de variación intra e inter-ensayo estuvieron en el rango de 10 -12 % y 10 a 15 %, respectivamente.

6. Análisis estadístico

Los elementos climáticos fueron analizados usando la metodología de análisis de varianza (ANAVAR) a través del paquete estadístico StatView® de SAS, versión 1992-1998. Los modelos evaluados fueron: a) tratamientos (SOL vs. SOMBRA); b) tratamientos y hora de medición (registro horario diario y/o horas toldos diarias); c) tratamiento y día de experimentación. En caso de diferencias entre medias, la prueba de comparación se realizó por Tukey-Kramer.

La concentración de CORT y P_4 fue determinada por ANAVAR para medidas longitudinales usando el procedimiento MIXED de SAS. Mediante la técnica de Littell *et al.* (1998), se seleccionó una estructura apropiada de varianza-covarianza. Las medias fueron estimadas por mínimos cuadrados y su comparación se realizó a través de la Prueba de Tukey. El modelo incluyó efecto de tratamiento (SOL vs. SOMBRA), día de experimentación (1, 3, 6...32 en el caso de CORT y 1, 2...20 en el caso de P_4) y su respectiva interacción. Para CORT, se utilizó la concentración inicial como co-variable debido a que los valores fueron diferentes entre tratamiento. Se calculó la P_4 acumulada durante todo el periodo experimental y se analizó por ANAVAR incluyendo en el modelo el tratamiento (SOL vs. SOMBRA). Adicionalmente, se determinó el coeficiente de correlación lineal de Pearson entre los elementos climáticos y la concentración de CORT (SAS).

III. RESULTADOS Y DISCUSIONES.

1.1. Caracterización de las condiciones meteorológicas del área de experimentación

En el Cuadro 1 pueden observarse los valores promedios diarios (\pm DE) y durante las horas de aplicación de los tratamientos (12:00 a 14:00 horas) de los elementos climáticos evaluados y del ITH.

Cuadro 1. Medias (\pm DE) diarias y durante el periodo de 12:00 a 14:00 horas de los elementos climáticos e ITH evaluados en los tratamientos SOL y SOMBRA.

| Variables | Promedios Diarios (\pm DE) | | Promedios Horas de confinamiento (\pm DE) (12:00-14:00 h) | |
|-----------------------------------|-------------------------------|-------------------|--|-------------------|
| | SOL | SOMBRA | SOL | SOMBRA |
| Temperatura máx. ($^{\circ}$ C) | 34,1 \pm 1,4 | 34,0 \pm 1,4 | 33,7 \pm 1,8 | 33,9 \pm 1,4 |
| Temperatura media ($^{\circ}$ C) | 26,1 \pm 5,3 | 26,3 \pm 5,32 | 33,0 \pm 1,4 | 32,9 \pm 1,7 |
| Temperatura min. ($^{\circ}$ C) | 18,9 \pm 1,9 | 18,8 \pm 1,8 | 33,5 \pm 1,8a | 31,9 \pm 2,2b |
| Humedad relativa (%) | 66,5 \pm 22,2 | 65,6 \pm 22,7 | 43,4 \pm 11,7a | 39,7 \pm 9,9b |
| Radiación global (w/m^2) | 207,8 \pm 286,5 a | 57,9 \pm 93,0 b | 659,9 \pm 191,a | 101,7 \pm 50,9b |
| ITH (Unidades) | 74,4 \pm 5,45 | 74,1 \pm 5,55 | 80,7 \pm 0,8a | 80,1 \pm 0,7b |

ab Diferente literal entre columnas indican diferencias significativas ($P < 0,01$).

La radiación global promedio (Rg) en las horas diurnas fue mayor en SOL que en SOMBRA ($P < 0,01$). El día 3 del experimento se presentó el valor más bajo de Rg de toda la experiencia. Posterior a este día, los valores se presentan estables, aunque mostrando una tendencia a la disminución en la carga radiante a lo largo del periodo de experimentación (Figura 2a). En las horas de confinamiento (Figura 2e), los animales del tratamiento SOL estuvieron expuestos a valores de Rg seis veces mayores que aquellos del tratamiento SOMBRA. Esto quiere decir que el uso del toldo, como era de esperarse, redujo la carga radiante sobre los animales en un 84,5 % y de esta manera, los mismos pudieron, posiblemente, estar en una condición de menor estrés, con respecto a aquellos que no tuvieron acceso a sombra.

La temperatura promedio del aire (TA) fue 0,2 $^{\circ}$ C superior en SOL con respecto a SOMBRA, sin diferencias entre tratamientos ($P > 0,05$). Los valores mínimos de temperatura se observaron alrededor de las 06:00 horas en SOL y a las 04:00 horas en SOMBRA, mientras que los máximos se presentaron alrededor de las 14:00 horas en ambos tratamientos (Cuadro 1; Figura 2f). Lo anterior es característico del

comportamiento de este elemento climático, debido al balance energético y al mecanismo de calentamiento del aire, es decir, la convección (Sendiña y Pérez, 2006). Los valores de TA muestran una tendencia a disminuir a lo largo del ensayo (Figura 2b).

La TA en el ensayo estuvo por encima de los 25 °C en el 96,7 % y 93,5 % de los días en SOL y en SOMBRA respectivamente (Figura 2b). Según Roca, (2011), cuando la TA fluctúa entre los 20 y 24 °C en vacas lecheras, inician la utilización de diversos mecanismos para disipar el calor corporal y cuando se encuentran por encima de los 25°C, los mismos se encuentran en una situación de estrés, ocasionada por las altas temperaturas ambientales y por tanto, requieren activar otros mecanismos de termorregulación. Saravia (2009), establece que cuando la TA promedio $\geq 23^{\circ}\text{C}$ y la $T_{\text{max}} \geq 29^{\circ}\text{C}$, pueden considerarse como temperaturas causantes de estrés calórico también en vacas lecheras. Es importante destacar que los animales tanto del grupo de SOL como de SOMBRA estuvieron sometidos a temperaturas medias y máximas superiores a dicho valor en las horas diurnas, sin embargo, durante la noche las mismas se mantenían por debajo de los 20 °C, lo que podría disminuir el efecto de las altas temperaturas a las que se encontraban sometidos los animales durante algunas horas del día y por tanto, dichos animales posiblemente, lograron compensar la condición de estrés a la cual estuvieron expuestos, liberando calor por diversos mecanismos de disipación, como por ejemplo la radiación y/o la convección.

En relación a la humedad relativa promedio (HR), no hubo diferencias significativas entre los tratamientos (Cuadro 1; $P > 0,05$) y los valores máximos se manifestaron a las 06:00 y 05:00 horas en SOL y SOMBRA respectivamente, mientras que los mínimos se presentaron alrededor de las 14:00 horas en ambos tratamientos. A pesar de no existir diferencias debidas al tratamiento, hubo efecto de los días de medición sobre los valores de HR (Figura 2c; $P < 0,01$).

La HR estuvo cercana al 70% en ambos tratamientos, correspondiendo con un valor que Vélez y Uribe-Velásquez (2010) definen como apto para la cría de animales domésticos, cuando la TA se encuentra en el rango de tolerancia o bienestar térmico para los mismos. Sin embargo en las horas de confinamiento, la HR media fue 3,7 % superior en SOL que en SOMBRA, mostrando diferencias significativas entre los tratamientos (Cuadro 1; $P < 0,01$).

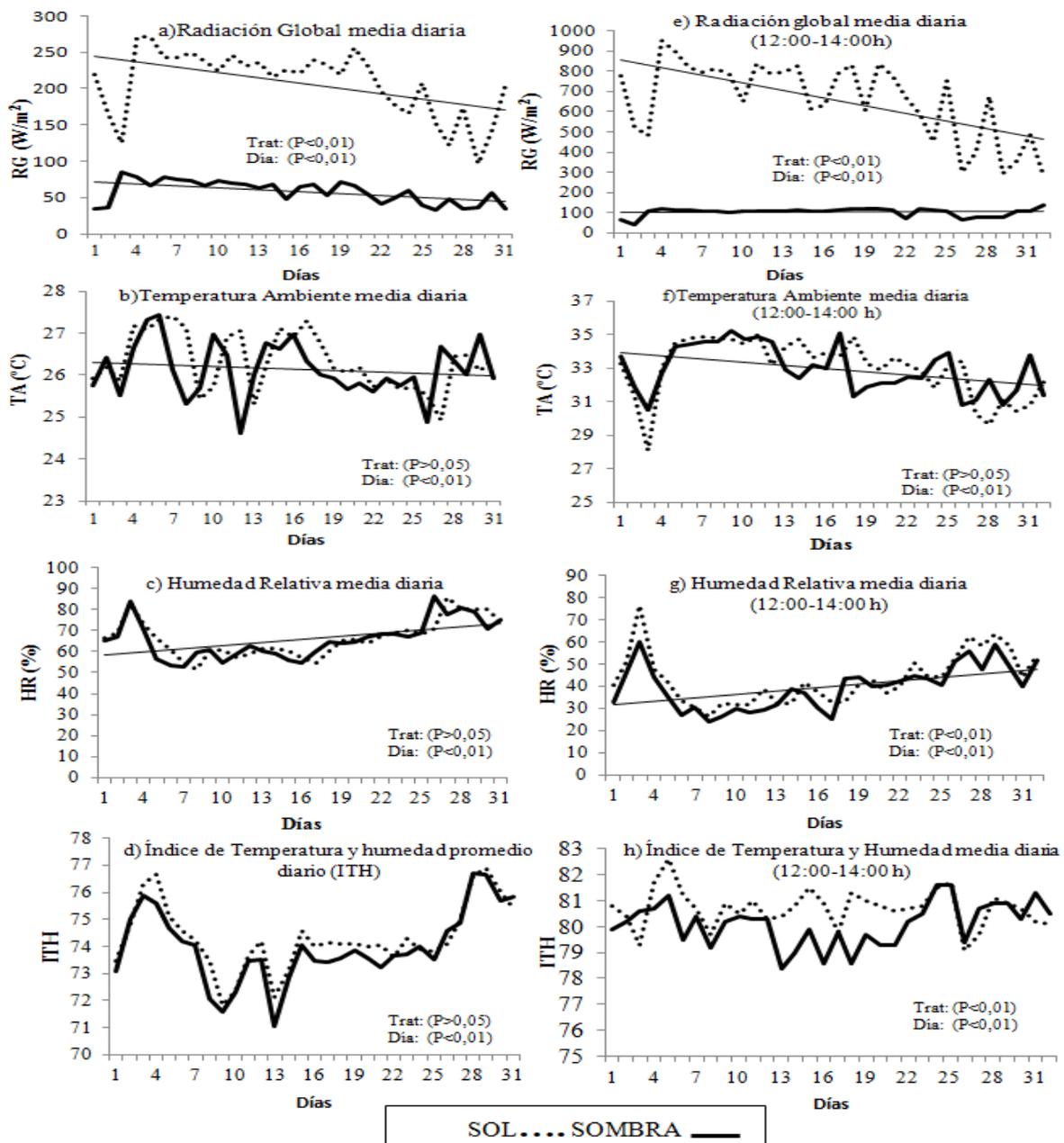


Figura 2. Radiación global (W/m²) (a), Temperatura ambiente (°C) (b), Humedad relativa (%) (c), e Índice de temperatura y humedad (d) media diaria (00:00- 24:00 h) y Radiación global (W/m²) (e) Temperatura ambiente (°C) (f), humedad relativa (%) (g), e índice de temperatura y humedad (h) media diaria durante el confinamiento (12:00 – 14:00 horas) en los tratamientos SOL y SOMBRA.

Es importante resaltar los altos valores de HR en dichas horas para ambos tratamientos el día 3 del ensayo, en comparación con el resto de los días de experimentación (Figura 2g). El aumento en los niveles de HR, pueden ocasionar

situaciones estresantes en los animales debido a un incremento en la sensación térmica. Luego de este evento, los valores de HR se estabilizan a partir de los días 4 y 5, e inicia un incremento paulatino de los mismos a lo largo del ensayo, lo que podría afectar los mecanismos de termorregulación de los animales por una dificultad para ceder calor al medio debido a la alta HR.

El índice de temperatura y humedad (ITH) fue 0,3 unidades mayor en SOL que en SOMBRA, sin diferencia entre tratamientos ($P>0,05$). Sin embargo, se presentó efecto del día medición ($P<0,01$). En este sentido, se observan valores de ITH más altos los primeros días del experimento y los más bajos entre los días 7 y 25, aunque manteniéndose por encima de las 72 unidades con excepción del día 9 y los días 9 y 13 en SOL y SOMBRA respectivamente (Figura 2d), correspondiendo este valor con una situación de alerta y/o inicio de estrés. Además, durante las horas de confinamiento (12:00 – 14:00 horas) en el tratamiento SOL, el ITH fue mayor que en el tratamiento SOMBRA ($P<0,01$) en el 71,8 % de los días (Figura 2h). Por tal motivo se puede decir que los animales carentes de sombra durante las horas de mayor calor del día, pudieron presentar una condición de estrés debido a las condiciones meteorológicas predominantes en dichas horas.

La temperatura de globo negro (TGN) promedio fue 8,1 °C significativamente superior en SOL que en SOMBRA (Cuadro 2; $P<0,01$). Esta depende de diversas variables, entre ellas la Rg y la TA, las cuales presentan una alta correlación(r) (Rg: $r=0,82$; TA: $r=0,32$; $P<0,01$). De este modo, la oscilación en estas variables, ocasiona fluctuaciones en el valor de dicha temperatura y como los valores máximos de Rg y TA se presentan entre las 12:00 y las 14:00 horas, también la mayor TGN se expresa durante estas, debido a la interacción entre dichas variables.

Cuadro 2. Medias (\pm DE) de temperatura de globo negro a las 12:00, 13:00 y 14:00 horas en los tratamientos SOL y SOMBRA.

| Horas | TGN (°C) SOL | TGN (°C) SOMBRA |
|-------|-------------------|-------------------|
| 12:00 | 45,1 \pm 4,24 a | 37,0 \pm 3,49 b |
| 13:00 | 45,8 \pm 3,54 a | 37,6 \pm 2,75 b |
| 14:00 | 45,0 \pm 3,83 a | 36,6 \pm 2,54 b |

ab Diferente literal entre columnas indican diferencias significativas ($P<0,01$).

En general, durante el periodo de experimentación la Rg mostró una tendencia a la disminución de sus valores debido a la época del año (Figura 2a), es decir, en términos del régimen de este elemento climático, durante el mes de abril se esperan valores más altos que en el mes de mayo, debido que en este último, inicia la formación de nubes que absorben, reflejan y dispersan parte de la radiación que va atravesando la atmósfera. Por otro lado, debido a que la temperatura ambiente es manifestación y consecuencia de la radiación global, es natural el mismo comportamiento en los valores de TA (Figura 2b) y por tanto de la TGN, ya que la misma depende de la interacción de estas. Lo anterior, tiene como consecuencia un incremento en la HR por la disminución de la TA ($r = -0,92$; $P < 0,01$), ya que el aire presenta una menor capacidad para contener vapor de agua y encontrándose el mismo cercano a la saturación.

2.1 Variables fisiológicas

2.1.1 Frecuencia respiratoria (FR)

La FR se vió afectada por el tratamiento, día de medición e interacción tratamiento x día ($P < 0,01$). En este sentido, se observa que los animales de SOL presentaron medias estimadas \pm DE (mov/min) de $139,6 \pm 4,6$ contra $112,3 \pm 3,0$ del grupo de SOMBRA ($P < 0,01$). Con respecto al día de medición, aquel donde se presentó la mayor FR en el tratamiento SOL, fue el día 28 del ensayo con 179,6 mov/min, mientras que en el tratamiento SOMBRA, aquel donde ocurrió el valor máximo, fue el día 5, con 158,12 mov/min. Por otro lado, la menor FR presentada en los tratamientos fue 95,2 y 72,1 mov/min en SOL y SOMBRA, los días 3 y 12 respectivamente. Tomando en cuenta los valores fisiológicos de FR en ovinos (12 y 20 mov/min), el número de aspiraciones/minuto observados en esta investigación indican que los animales de ambos tratamientos incrementaron su FR con la finalidad de termorregularse. Fontez *et al.* (2003), observaron FR significativamente mayores en horas de la tarde con respecto a la mañana (96,4 contra 64,3 mov/min), valores que contrastan con los observados por Pinto- Santini *et al.* (2014), donde los animales presentaron 47 y 44 mov/min contra 59 y 52 mov/min en horas de la mañana y de la tarde en los tratamientos SOL y SOMBRA respectivamente.

En este sentido, las diferencias en la FR podrían deberse entre otras cosas a las variables climáticas, ya que en el trabajo realizado por este último autor, las condiciones en las cuales se realizó el experimento correspondían a la época lluviosa, es

decir, con mayor nubosidad y por ende menor Rg recibida en ambos tratamientos. Lo anterior podría explicar de alguna manera el efecto de las variables climáticas y temporales sobre este índice fisiológico. Con base en lo anterior, De Oliveira *et al.* (2013), observaron que en ovejas de la raza Santa Inés, se ve afectada la FR por la presencia de sombra así como por la época del año (Fría o Caliente), obteniendo valores de 36,8 y 30,2 mov/min en SOL y SOMBRA respectivamente durante la temporada fría(23,8 a 25,1 °C), mientras que en la época más calurosa del año(27,7 e 28,9 °C) observaron FR de 54,9 y 46,9 mov/min en SOL y SOMBRA respectivamente.

2.1.2 Temperatura corporal (TC).

Esta variable se vió afectada por el tratamiento, día de medición e interacción tratamiento x día ($P<0,01$). En este sentido, los valores medios para los tratamientos SOL y SOMBRA, fueron de $39,4\pm 0,17$ °C y $39,3\pm 0,10$ °C respectivamente ($P<0,01$), lo que indica que la misma estuvo dentro de los rangos fisiológicos normales para ovinos (38 – 40 °C). Los animales del tratamiento SOL siempre estuvieron por encima de aquellos animales que estuvieron bajo SOMBRA. Esta variable presentó valores máximos de 40 °C y 39,6 °C en los animales del tratamiento SOL y SOMBRA respectivamente, presentándose los mismos en los primeros días del experimento, mientras que las menores TC fueron de 39,2 °C en el tratamiento SOL y 39,1 °C en el de SOMBRA, correspondiendo los días 3 y 20 del ensayo respectivamente. La TC muestra una tendencia a la disminución de sus valores a lo largo del ensayo a pesar de su gran variabilidad (Figura 3b). Este comportamiento se atribuye a una disminución en las variables TA y Rg, causantes del incremento en la TC en los animales evaluados. Por otro lado en el estudio realizado por Pinto-Santini *et al.* (2014), se observaron TC superiores (39,7 °C) en horas de la tarde para ambos tratamientos, en comparación con las presentadas en esta investigación.

De Oliveira *et al.* (2013), observaron diferencias significativas debidas al uso de sombra y a la época del año sobre este índice fisiológico, sin interacción entre estos, obteniendo que la TC en ovejas de la raza Santa Inés fue de 38,44 contra 38,29 °C en la época fría (TA: 23,8 a 25,1 °C) y 38,50 contra 38,43 °C durante la temporada calurosa (TA: 27,7 e 28,9 °C) en SOL y SOMBRA respectivamente.

Algunos estudios sugieren que el solo uso de los índices fisiológicos TC y FR a la hora de evaluar el grado de adaptación de ovejas en ambientes tropicales no son

suficientes, por lo que analizar las concentraciones de hormonas tiroideas y adrenales es de suma importancia cuando se relacionan el estrés térmico y el metabolismo (Starling *et al.*, 2005).

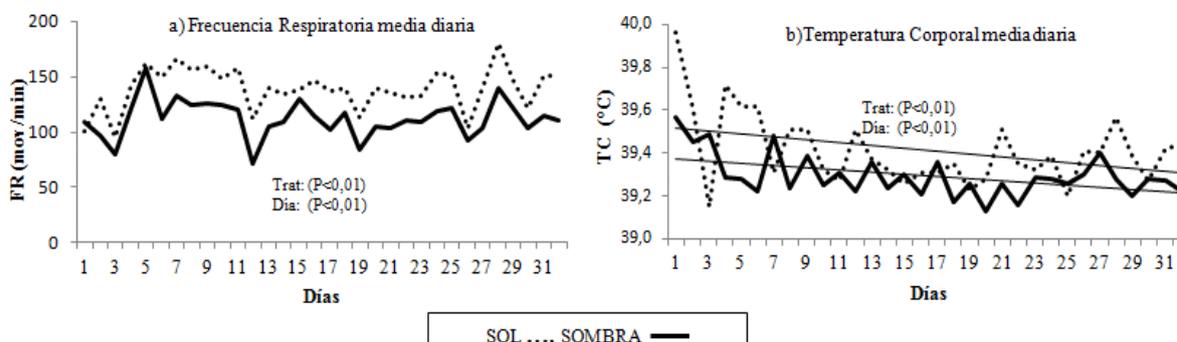


Figura 3. Frecuencia Respiratoria (mov/min) (a) y Temperatura corporal (°C) (b) media diaria durante el ensayo en los tratamientos SOL y SOMBRA.

2.2.1 Concentración sérica de Cortisol (CORT).

Durante el ensayo, las concentraciones promedio de CORT en SOL presentaron una tendencia a ser superiores ($42,5 \pm 11,4$ ng/mL) que en SOMBRA ($29,8 \pm 7,7$ ng/mL) ($P > 0,05$); esta tendencia se mantuvo a lo largo de todo el experimento, tal como se observa en la Figura 4.

En contraste con esto, en el trabajo de Pigliacampo, (2014) en corderas West African bajo las mismas condiciones, las concentraciones de CORT se vieron afectadas por el tratamiento, semana y momento de evaluación ($P < 0,01$), obteniendo valores superiores en SOL ($26,4 \pm 19,9$) ng/mL que en SOMBRA ($19,7 \pm 12,1$) ng/mL al igual que al comparar los niveles de cortisol en la mañana ($24,8 \pm 17,2$) ng/mL que en la tarde ($20,9 \pm 15,8$) ng/mL. Las diferencias observadas en los valores de cortisol pueden deberse a que en el trabajo de Pigliacampo, las condiciones meteorológicas correspondían a la época lluviosa, con menor carga radiante recibida por los animales en el periodo experimental, por lo que podrían estar en una condición microclimática más confortable. Adicionalmente el trabajo de este autor, consideró la extracción de muestras de sangre una vez por semana mientras que en la presente investigación la recolección fue diaria y posiblemente, a pesar de la capacidad de adaptación de los animales a la rutina y presencia de las personas, podría asociarse el mayor nivel de cortisol al dolor causado por las jeringas, incrementando de este modo las concentraciones de esta hormona en las horas de evaluación, mostrando niveles de

CORT considerados por Thomson *et al.* (1995) como indicadores de estrés en corderos. El elevado cortisol circulante puede causar alteraciones a nivel reproductivo ya que bloquea o retrasa el desarrollo folicular y la presentación del pico preovulatorio de LH en ovejas (Daley *et al.*, 1999), y disminuye la eficiencia reproductiva de los animales bajo condiciones de estrés.

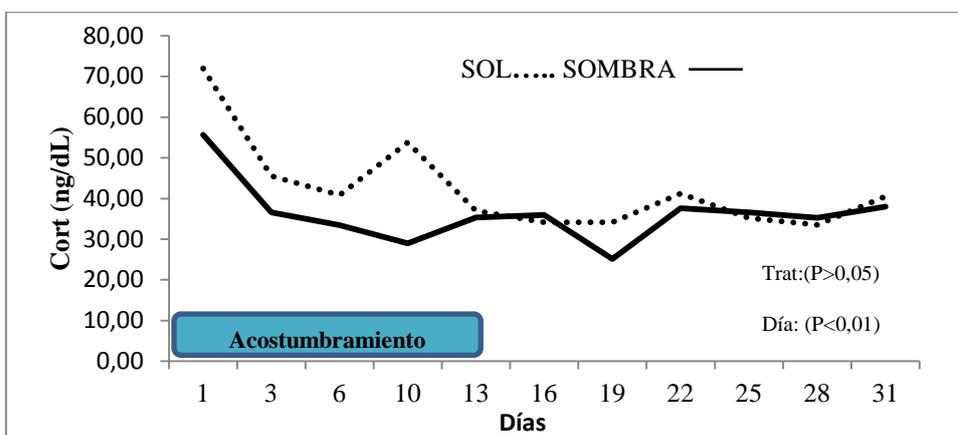


Figura 4. Concentración promedio de Cortisol (ng/mL), durante el periodo de acostumbramiento y experimental total en SOL y SOMBRA.

El día de medición afectó la concentración de esta variable ($P < 0,01$). En este sentido, en el primer día del experimento, se presentaron los niveles más elevados de esta hormona en ambos tratamientos. Esto podría deberse a que los animales estaban iniciando el ensayo y esta nueva situación, incrementó las concentraciones séricas de CORT. Sin embargo, al transcurrir los días de experimentación, estas concentraciones muestran una tendencia a la disminución de sus valores, salvo algunas variaciones en los días 10 y 22 en el tratamiento SOL, donde se incrementan las mismas, pero vuelven a disminuir para mantenerse estables el resto del tiempo, mientras que en SOMBRA, a pesar de que las concentraciones de CORT, muestran la misma tendencia del tratamiento SOL, se presenta un aumento entre los días 13 y 16, con disminución de dichas concentraciones en el día 19 y posterior incremento el día 22, para mantenerse estables el resto del tiempo, lo que podría deberse a la capacidad de aclimatación o adaptación de los animales ante un nuevo entorno, como se observó en los estudios de Yates *et al.* (2010), en ovejas bajo un sistema de aislamiento, donde se presentaron niveles más altos de esta hormona a inicios del experimento (30-35 contra 40-45 ng/mL), en comparación con el final del periodo experimental (5-15 contra 5-10 ng/mL), en horas de la mañana y de la tarde respectivamente.

En referencia a la interacción entre los elementos climáticos con la hormona del estrés, no existe correlación entre las variables TA($r=0,01$), HR($r=-0,03$) e ITH($-0,03$) con la misma ($P>0,05$). Sin embargo, Starling *et al.* (2005), señalan que las concentraciones de cortisol pueden sufrir elevaciones en ovejas Corriedale, por incrementos en la TA y HR, observando valores superiores de esta hormona en verano (15,42 ng/mL), con respecto a invierno (12,29 ng/mL), mientras que Ponce *et al.* (1999) reportó niveles de cortisol de 8,7 y 13 ng/mL en vacas en invierno y verano respectivamente. Abilay *et al.* (1975) observaron la respuesta del CORT en vacas durante cuatro horas de exposición a temperaturas ambientales de 42°C y humedad relativa de 60%, reportando que los valores de esta hormona fueron 8,4; 17,9; 22,6 y 28,5 ng/mL al inicio; a los 80; 110 y 160 min de exposición respectivamente. Cwynar *et al.* (2014), observaron que ovejas expuestas a elevadas TA mostraron un incremento significativo en las concentraciones de CORT, así se presentaron niveles de esta hormona de $1,7\pm 1,6$; $11,8\pm 5,3$ y $16,9 \pm 5,1$ ng/mL cuando estuvieron expuestos a 16; 30 y 50 °C respectivamente.

Por otro lado, la Rg y la TGN muestran una correlación positiva y significativa, aunque de media a baja, con el cortisol, es decir, a medida que aumentan la Rg y la TGN, también lo hacen las concentraciones de cortisol ($r=0,31$ y $r=0,21$; $P<0,01$ para Rg-CORT y TNG-CORT, respectivamente). Lo anterior supone que grandes variaciones en estas variables climáticas, ocasionan pequeñas variaciones en las concentraciones séricas de esta hormona, motivo por el cual los animales expuestos a Rg directa mostraron niveles más elevados de este glucocorticoide, por el impacto del agente estresor, en este caso la radiación recibida durante las horas más calurosas del día.

2.2.2 Concentración sérica de Progesterona (P₄).

En la Figura 5 se observan los resultados de las concentraciones de progesterona (P₄) obtenidas a partir de la segunda inyección del análogo de PGF₂α (día 12 del experimento). Los valores presentados corresponden a las medias estimadas de sólo cinco animales por tratamiento; lo anterior, debido a que sólo los que respondieron al protocolo de sincronización aplicado, según lo teóricamente esperado de las concentraciones de P₄.

Los protocolos de sincronización en base a prostaglandinas o sus análogos presentan como desventaja principal el que no logran sincronizar animales con anestro,

es decir, requieren la presencia de un cuerpo lúteo activo para poder ejercer su acción (González, 1993). Lo anterior, a pesar de que en el día 10 se aplicó Acetato de Buserelina, que favorecería el crecimiento y maduración de folículos de una onda de crecimiento folicular, tuvo una efectividad limitada ya que la misma dependería de la presencia de un cuerpo lúteo que sería lisado con la segunda dosis de Cloprostenol, que probablemente, no se presentó en el grupo de animales que no respondieron al protocolo, tal como ha sido reportado por Lozano *et al.* (2012).

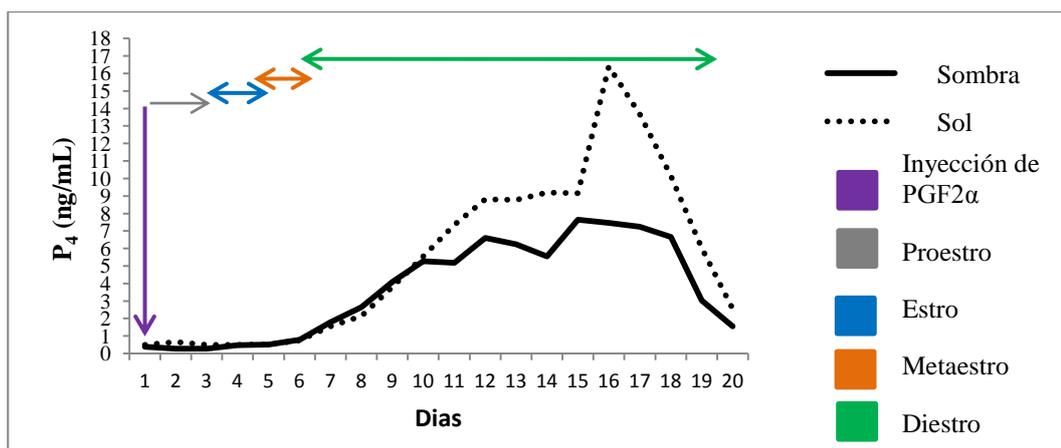


Figura 5. Concentración de Progesterona (ng/mL), a partir de la segunda inyección de Cloprostenol.

El resto de las hembras, presentó concentraciones muy bajas o muy altas (de difícil explicación biológica) y tuvieron que ser descartados del análisis. En este sentido, el número limitado de animales que respondieron a la sincronización, permite sugerir la necesidad de incrementar el número en nuevos estudios comprobatorios para evaluar la relación entre el estrés calórico y la reproducción. En los estudios realizados por Ponce *et al.* (1978); Rodríguez *et al.* (2009); Uribe-Velásquez *et al.* (2001) se utilizaron 116, 32 y 6 animales respectivamente en sus ensayos. Similar al reporte del presente trabajo, en el experimento de Pigliacampo (2014), se descartaron del análisis reproductivo cinco animales del tratamiento SOL y dos de SOMBRA, debido a que estos presentaron niveles de P₄ muy elevados para corderas (>0,5 ng/mL y en algunos casos >1 ng/mL) durante todo el periodo de experimentación, por lo que no se descarta la posibilidad de secreción de P₄ de origen adrenal, ya que ante situaciones estresantes, el hipotálamo induce la secreción de la hormona liberadora de corticotropina (CRH), que estimula la hipófisis para liberar hormona adrenocorticotrópica (ACTH), y esta a su vez estimula la secreción de glucocorticoides desde la corteza adrenal (Álvarez, 2008),

más específicamente en la zona fascicular, donde se requiere de la interacción de un complejo grupo de enzimas que transforman el colesterol en el producto final en la cadena de formación de glucocorticoides, es decir, el cortisol. Conociendo las rutas metabólicas de la síntesis de esteroides a nivel adrenal, probablemente en situaciones de estrés puede presentarse una sobre estimulación de la glándula adrenal para producir cortisol, sin embargo, probablemente por carencia de enzimas para catalizar el colesterol a la misma velocidad que se produce y por exceso de sustrato, el colesterol solo logra convertirse en progesterona sin culminar la ruta hacia la formación de cortisol. En este sentido, Freitas-de-Melo *et al.* (2015), reportan elevaciones en los niveles de progesterona y cortisol en animales expuestos a una prueba de aislamiento social en ovejas en anestro, producto de una sobre producción de ACTH, liberando P₄ por la glándula adrenal, por lo cual dichas concentraciones pudieran considerarse como un indicador de estrés en los animales.

Como se puede observar en la Figura 5, la concentración de P₄ en el tratamiento SOL, estuvo en el rango de 0,5 ng/mL a 16,4 ng/mL, mientras que en el tratamiento SOMBRA la misma estuvo entre los 0,28 ng/mL y 7,64 ng/mL. Como es de esperarse, la misma aumenta a medida que avanzan los días del ciclo estral, por lo que el día de medición tuvo efecto sobre las concentraciones de P₄ (P<0,01), además el tratamiento y la interacción tratamiento x día, ocasiona una diferencia significativa en la concentración de la misma en los animales evaluados, observándose valores de P₄ acumulada durante el ciclo estral de 108,58 ±4,8 ng/mL y 73,64±2,7 ng/mL en SOL y SOMBRA respectivamente (P<0,01). Esto pudo deberse, posiblemente, a que las ovejas del tratamiento SOL, presentaron un estrés agudo, teniendo así una mayor concentración de corticoides en sangre con respecto a SOMBRA, tal como ocurrió en el trabajo de Ponce *et al.* (1978); con vacas lecheras, donde los animales carentes de sombra mantuvieron elevados niveles altos de P₄ durante todo el ensayo en comparación con aquellos que hicieron uso del toldo.

En contraste con este, Hill y Alliston, (1981) reportan que la progesterona plasmática entre los días 7 y 13 del ciclo estral, disminuyó significativamente en animales expuestos a elevadas temperaturas ambientales y humedad relativa, es decir, animales que probablemente se encontraban en condición de estrés térmico, efecto contrario a lo observado en esta investigación.

Rodríguez *et al.* (2009) plantean que el estrés térmico no tiene efectos sobre la concentración de P₄, ni sobre la duración del ciclo estral en ovejas adaptadas (Pelibuey) y no adaptadas (Sufflok) a clima cálido, coincidiendo con los estudios realizados por Uribe-Velásquez *et al.* (2001) en cabras Pardo Alpinas, donde las altas temperaturas ambientales no tuvieron efecto sobre las concentraciones plasmáticas de P₄ a pesar de afectar las concentraciones de estradiol.

Para los animales que respondieron al protocolo de sincronización, en base a las concentraciones de P₄ presentados, que se muestran en la Figura 5 y los reportes de la literatura, se pueden establecer las fases del ciclo estral. Entre los días 1 y 3, proestro o periodo que antecede al celo, este se caracteriza por una rápida disminución en los niveles de progesterona, causada por la liberación de PGF2 α desde el endometrio (Atuesta y Gonella, 2011). Desde el día 3 hasta el 5, receptividad sexual o estro, etapa del ciclo estral donde el folículo preovulatorio alcanza su máximo tamaño (López *et al.*, 1993) y los niveles de P₄ se mantienen en su mínima expresión, aumentando los niveles de LH, y provocando la ovulación, la cual puede ocurrir de 24 a 36 horas luego de iniciado el estro (Uribe-Velásquez *et al.*, 2010). Este retraso en la aparición del celo, puede deberse a las condiciones estresantes generadas en ambos tratamientos, lo cual afecta la ovulación y por tanto, no hay formación de cuerpo lúteo y por ello tardan en aumentar las concentraciones de P₄. Seguida a esta fase, entre los días 5 y 6, inicia la formación del cuerpo amarillo o lúteo, es decir, etapa de metaestro y seguido a este, inicia la fase progestacional o Diestro (Ramírez, 2006), que según las concentraciones de progesterona (>1 ng/mL) (Uribe-Velásquez *et al.*, 2008), inicia entre los días 6 y 7, teniendo una duración aproximada de 13 a 14 días. Es importante resaltar, que esta Figura no muestra el momento en que las concentraciones de P₄ vuelven a encontrarse por debajo de 1 ng/mL, por tanto en el día 20 mostrado en la misma los animales evaluados aún se encontraban en Diestro.

IV. CONCLUSIONES

1. El uso del toldo redujo la radiación global en un 84,5 % en Sombra con respecto a Sol. Lo anterior supone una disminución en la carga radiante, por lo que los animales en sombra podrían estar en una condición más favorable que aquellos animales expuestos a Rg directa en las horas más calurosas del día.
2. La TA, HR e ITH, no fueron diferentes entre los tratamientos. Sin embargo los valores observados, demuestran condiciones ambientales que pueden generar estrés térmico en los animales de ambos tratamientos.
3. La temperatura de globo negro fue mayor en el tratamiento Sol (45,2 °C) que en Sombra (37,1 °C). Lo anterior supone que los animales del tratamiento Sol, presentan una mayor sensación térmica y por tanto deben activar sus mecanismos de disipación de calor, con mayor gasto energético que los animales del tratamiento sombra.
4. De manera general, la utilización del termómetro de globo negro para determinar la sensación térmica de los animales puede promoverse a nivel regional como nacional y a nivel científico como empírico, ya que da información de importancia y de suma practicidad a la hora de determinar las condiciones microclimáticas en la que se encuentran los animales.
5. La Temperatura Corporal y Frecuencia respiratoria fueron mayores en el tratamiento Sol que en Sombra, teniendo así que los animales sin acceso a esta, requieren activar en mayor medida, los mecanismos de disipación de calor como la FR, a fin de mantenerse dentro del rango que permite el bienestar térmico, pero al ser insuficiente esta última, aumenta la TC ocasionando una condición de estrés calórico en los animales.
6. La concentración de CORT, parece indicar que los animales carentes de Sombra presentan mayor grado de estrés que aquellos que tuvieron acceso a la misma. Sin embargo, de acuerdo a las concentraciones presentadas $48,16 \pm 11,4$ ng/mL y 29,8

$\pm 7,7$ ng/mL en Sol y Sombra respectivamente, indican que ambos grupos estuvieron bajo condiciones estresantes.

7. Las concentraciones de P4 durante las primeras fases del ciclo estral, presentan el mismo comportamiento entre los tratamientos, es a partir del Diestro cuando inician las diferencias marcadas en las concentraciones de esta hormona, presentándose valores acumulados de 108,58 ng/mL en Sol y 73,64 ng/mL en Sombra.

8. El uso de Sombra en los potreros durante las horas de mayor Rg y TA, parece evitar el incremento en las concentraciones de Progesterona, posiblemente por una disminución de estímulo a nivel de la corteza adrenal. Lo que probablemente resulta en una menor concentración de colesterol que tome la ruta metabólica hacia la formación de progesterona y por tanto de cortisol, al ser el colesterol el precursor de ambas hormonas.

V. RECOMENDACIONES

1. Utilizar un mayor número de repeticiones por tratamiento, para lograr una representatividad estadística de los resultados, en el caso de animales que son sometidos a protocolos de sincronización de celo, ya que no todos responden en la misma medida a los mismos.
2. Extender el periodo de experimentación y corroborar el comportamiento de las hormonas (Cortisol y Progesterona) durante al menos dos ciclos estrales e incluso evaluar el efecto acumulativo del cortisol sobre la eficiencia reproductiva de los animales, por ejemplo, fertilidad.
3. Incorporar determinaciones de colesterol dado su rol como precursor de todas las hormonas esteroides.
4. Ampliar las determinaciones hormonales e incluir otras hormonas asociadas a la adaptación metabólica que pudieran contribuir a aclarar las respuestas fisiológicas de los animales bajo estrés calórico, por ejemplo, Triyodotironina (T3) y Tiroxina (T4).
5. En estudios en los cuales se sometan los animales a protocolos de sincronización, los mismo deberían aplicarse posterior al periodo de acostumbramiento de la rutina por parte de los animales. Esto debido a que el estrés causado por el cambio de actividades de los mismos, pudiera reducir la eficiencia de sincronización de dichos animales, tal como pudo suceder en esta experiencia.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abilay, T.; R. Mitra; H. Johnson.1975. Plasma cortisol and total progesterin levels in Holstein steers during acute exposure to high environmental temperature (42 °C) conditions. *J. Anim. Sci* 41: 113-117.

Álvarez, L. 2008.Efectos negativos del estrés sobre la reproducción en animales domésticos. *Arch. Zootec.* 57: 39-59

Arias, R.; T. Mader; P. Escobar. 2008. Factores climáticos que afectan el desempeño productivo del ganado bovino de carne y leche. 40: 7-22.

Atuesta, J.; A. Gonella. 2011. Control hormonal del ciclo estral en bovinos y ovinos. *Revista SpeiDomus.* 7(14): 15-25.

Barrera, D.; E. Ávila; L. Díaz. 2007. Papel inmunológico de la Progesterona en el mantenimiento del Embarazo. *Revista de investigación clínica.* 59(2): 139-145.

Chemineau, P. 1992. Medio ambiente y reproducción animal. *Rev. Mund. Zoo.*77(4): 2-14.

Cwynar, P.; R. Kolacz; A. Czerski. 2014. Effect of heat stress on physiological parameters and blood composition in Polish Merino rams. 127: 177-182.

Daley, C.; M. Macfarlane; H. Sakurai;T. Adams.1999. Effect of stress-like concentrations of cortisol on follicular development and the preovulatory surge of LH in sheep. *J. Reprod. Fertil.*117: 11-16.

De Oliveira, F.; S. Turco; I. Borges; C. Clemente; T. Nascimento;J. Filho. 2013. Parâmetros fisiológicos de ovinos Santa Inês submetidos a sombreamentocom tela de polipropileno. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental.* 17(9): 1014-1019.

FAO. 2009. Medio ambiente y reproducción. [en línea]. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/V1650T/v1650T04.htm>.

Fontes, M.; B. De Sousa; W. Hauss; E. Cavalcanti; F. Pimenta, G. Tavares, G. Medeiros. 2003. Avaliação de parâmetros fisiológicos de ovinos dorper, santa inês e

seus mestiços perante condições climáticas do trópico semi-árido nordestino. *Ciênc. Agrotec. Lavras*. 28(3):614-620.

Franco, J.; L. Uribe-Velásquez. 2012. Hormonas reproductivas de importancia veterinaria en hembras domésticas ruminantes. 11(1): 41-56.

Fraser, A.; D. Broom. 1997. *Farm animal behaviour and welfare*. Tird Ed. CAB International.

Freitas-de-Melo, A.; J. Damián; M. Hötzel; G. Banchero; R. Ungerfeld. *in press* 2015. Progesterone pretreatment increases the stress response to social isolation in ewes.

Fuguay, J. 1981. Heat stress as it affects animal production. *J. Anim. Sci.* 52:164-174.

González, C. 1993. Control del ciclo estral en ovejas y cabras en el medio tropical. *Revista Científica. FCV-LUZ*. 2(3):211-230.

Hansen, P.; C. Arechiga. 1999. Strategies for managing reproduction in the heat-stressed dairy cow. *J. Anim. Sci.* 77 (2):36-50.

Hill, T.; C. Alliston. 1981. Effects of thermal stress on plasma concentrations of luteinizing hormone, progesterone, prolactin and testosterone in the cycling ewe. *Theriogenology*. 15: 201-209.

Holdrige, L. 1979. *Ecología basada en zonas de vida*. IICA, San José, Costa Rica, 12p.

Lamming, G.; G. Mann. 1995. A dual role for progesterone in the control of ciclicity in ruminants. *J. Reprod. Fertil.* (49): 561-566.

Littell, R.; R. Henry; C. Ammerman .1998. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *J. Anim. Sci.* 76: 1216-1231.

López, A.; M. Santiago; A. De Bulnes; M. García. 1993. Aspectos característicos de la fisiología reproductiva de la oveja. *Revista Científica, FCV-LUZ*. 3(2):123-133.

López, R.; L. Pinto-Santini; D. Perozo; J. Pineda; I. Oliveros; T. Chacón; M. Rossini; L. Ríos de Álvarez. 2015. Confort térmico y crecimiento de corderas West African pastoreando con y sin acceso a sombra artificial. Arch. Zootec. 64 (246): 139-146.

Lozano, J.; L. Uribe-Velásquez; H. Osorio. 2012. Control hormonal de la reproducción en hembras ovinas (*Ovisaries*). Veterinaria y zootecnia. 6(2): 134-147.

Navas, A. 2010. Importancia de los sistemas silvopastoriles en la reducción del estrés calórico en sistemas de producción ganadera tropical. Revista de Medicina Veterinaria. 19: 113-122.

Nonaka, I.; N. Takusari; K. Tajima; T. Suzuki; K. Higuchi; M. Kurihara. 2008. Effects of high environmental temperatures on physiological and nutritional status of prepubertal Holstein heifers. LivestSci. 113: 14-23.

Pigliacampo, A. 2014. Efecto del sol y la sombra en los potreros sobre la pubertad en borregas mestizas West African. Tesis Ing. Agr. Maracay, Venezuela. Universidad Central de Venezuela. 31 p.

Pinto-Santini, L.; L. Ríos; I. Oliveros; A. Pigliacampo; T. Chacón. 2014. Índices fisiológicos en corderas tipo West African con acceso voluntario a sombra artificial bajo condiciones de emergencia de calor leve. LivestockResearchfor Rural Development. 26(11): 1-11.

Ponce, H.; W. Thatcher; C. Wilcox; R. Collier; H. Van Horn. 1978. Hormonal interrelationships and physiological responses of dairy cattle to a shade structure. DairySci.

Ponce, H.; W. Thatcher; D. Canton; T. Kassa. 1999. Long-term follicular dynamics and biochemical characteristics of dominant follicles in dairy cows subjected to heat-stress. J ReprodFertil. 54:503-514.

Ramírez, L. 2006. El ciclo estral y menstrual. Mundo Pecuario. 2(2): 30-31.

Roca, A. 2011. Efecto del estrés calórico en el bienestar animal, una revisión en tiempo de cambio climático. *Espanciencia*. 2(1):15-25.

Rodríguez, M.; H. Montaldo; J. Balcázar; J. Hernández. 2009. Niveles de progesterona sérica en ovejas Pelibuey y Suffolk sometidas a estrés térmico. *México*. 40(2): 197-202.

Saravia, C. 2009. Efecto del estrés calórico sobre las respuestas fisiológicas productivas de vacas Holando y Jersey. Trabajo de maestría. Universidad de la República, Facultad de Agronomía. Uruguay, Montevideo. 140 p.

Sendiña, I y V. Pérez. 2006. *Fundamentos de Meteorología*. Universidad de Santiago.

Sousa, D.; I. Ferreira; F. Da Costa; W. Pinto; R. Sabino. 2002. Avaliação de materiais alternativos para confecção do termômetro de globo. *Ciênc. Agrotec. Lavras*. 26(1):17-164.

Starling, J.; R. Silva; J. Negrão; A. Maia; A. Bueno. 2005. Variação estacional dos hormônios tireoideanos e do cortisol em ovinos em ambiente tropical. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 34:2064-2073.

Thompson, J.; F. Stormshak; J. Lee; D. Hess; Painter, L. 1995. Cortisol secretion and growth in ewe lambs cronically exposed to electric and magnetic fields of a 60-Hertz 500-kilovolt AC transmission line. *J. Anim. Sci*. 73:3274-3280.

Uribe-Velásquez, L.; E. Oba; L. Albuquerque; F. Neves; F. Wechsler. 2001. Efeitos do Estresse Térmico nas concentrações plasmáticas de Progesterona (P₄) e Estradiol 17-β (E₂) e temperatura retal em cabras da raça Pardo Alpina. *Rev. bras. Zootec.* 30(2):388-393.

Uribe-Velásquez, L.; M. Lênz; A. Loaiza. 2008. Efecto de la sincronización del estro con Prostaglandina-F2 vs CIDR + 500 µL de eCG en ovejas Bergamacia durante el inicio de la fase lútea. *Revista Científica, FCV-LUZ*. 18(4):368 – 373.

Uribe-Velásquez, L.; E. Oba; L. Albuquerque; F. Wechsler; A. Mendonça.1998. Concentrações Plasmáticas de Cortisol, Hormônios Tiroídeos, Metabólitos Lipídicos e Temperatura Corporal de Cabras Alpinas Submetidas ao Estresse Térmico. Sao Paulo, Brasil. 27(6): 1123-1130.

Uribe-Velásquez, L.; E. Oba; M. Lênz; M. Vélez; A. Correa 2010. Desarrollo folicular en ovejas durante el ciclo estral natural e inducido con prostaglandinas. Revista Científica, FCV-LUZ. 20(4):417-421.

UISI-CLIMA. 2012. Unidad de Servicios Integrados Climatológicos para la Investigación en Agricultura y Ambiente. FAGRO-UCV. Cátedra de Climatología Agrícola.

Váltora, S.; M. Gallardo. 1996. El estrés por calor en la producción lechera. El estrés por calor en producción lechera. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (Ed). Miscelánea. 81:173-185.

Vélez, M.; L. Uribe-Velásquez. 2010. ¿Cómo afecta el estrés calórico la reproducción?. Manizales, Colombia. 9 (2): 83-95.

West, J. 1992. Estrés calórico: alimentación y manejo para reducir sus efectos en las vacas Holando. Nuestro Holando, Bs.As. (388):1-5.

West, J. 2003. Effects of heat stress on production in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 86:2133-2134.

Yates, D.; A. Otis; C. Warner; L. Yates; R. Halalshah A; M. Horvath; D. Hallford; T. Ross. 2010. Effects of physical isolation on serum and salivary cortisol and components of complete blood counts in yearling ewes. *Sheep & Goat Research Journal.* 25: 39-44.