

RASGOS DE CONDUCTA Y PERFIL HORMONAL DURANTE LOS PRIMEROS 42 D DE GESTACIÓN EN OVEJAS A PASTOREO CON DISPONIBILIDAD DE SOMBRA

Behavioral Recordings and Hormonal Profile During the First 42 D of Gestation in Ewes Grazing with Shade Availability

Livia Pinto-Santini^{*1}, Johanny Carreño^{**}, Tony Chacón^{**}, Ana Zuley Ruiz^{**},
Antonio Landaeta-Hernández^{***}

^{*}Instituto de Producción Animal, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela (UCV).

^{**}Facultad de Ciencias Veterinarias, UCV. ^{**}Unidad de Investigaciones Zootécnicas,
Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia.

Correo-E: liviapintosantini@gmail.com

Recibido: 31/07/18 - Aprobado: 03/10/18

RESUMEN

Para caracterizar la frecuencia de observación de algunos rasgos de conducta y evaluar el efecto de la disponibilidad de sombra sobre el perfil de progesterona (P_4) y cortisol sérico (ELISA) durante los primeros 42 d de gestación. Un total de 20 ovejas West African fueron distribuidas en dos tratamientos: a) Con sombra (CS): pastoreo en las horas diurnas con disponibilidad de sombra artificial (n=10); b) Sin sombra (SS): pastoreo en las horas diurnas sin disponibilidad de sombra (n=10). Los rasgos de conducta (observación visual) de las ovejas fueron analizados mediante análisis gráficos multivariados (InfoStat/E, versión 2008). Los perfiles de P_4 y cortisol fueron analizados con modelos mixtos (PROC MIXED). Las ovejas pastorean principalmente en la mañana, tanto en el tratamiento SS (83,3%) como en el tratamiento CS (81,8%) fuera del toldo (FT). Sin embargo, en la tarde (PM) se observaron ovejas pastoreando bajo el toldo (BT; 15% CSBTM). La rumia y el consumo de agua no fueron actividades frecuentemente observadas. Los animales del tratamiento CS usaron el toldo para rumiar. Un gran número de ovejas se observaron paradas, sobre todo en el tratamiento SS, tanto

ABSTRACT

Some behavioral traits were characterized and the effect of shade availability on progesterone profile (P_4) and serum cortisol (ELISA) at the onset of gestation (first 45 d) in West African sheep was evaluated. A total of 20 sheep were used and allotted in the follows two treatments: a) sheep which grazed during the daytime hours and were provided with artificial shade (AS; n=10); b): sheep which grazed during the daytime hours and were not provided with shade (NAS; n=10). The behavioral traits (visual observation) of sheep were analyzed through a multivariate graphic analysis (Info Stat/E, 2008 version) and the P_4 and cortisol profiles, using mixed models (PROC MIXED). The results of the present investigation showed that the majority of sheep grazed during the morning hours, with a proportion of 83.3% corresponding to sheep of treatment NAS, while 81.8% of sheep of AS, grazed outside the awning. However, during the afternoon, 15% of sheep from AS grazed inside the awning. Rumination and water consumption were not frequently observed. Animals of AS had access to the awning to ruminate. A large number (80.3%) of sheep (mainly from NAS) were observed in the standing position during

¹ A quien debe dirigirse la correspondencia (To whom correspondence should be addressed)

AM (80,3%) como PM (98,5%). En concordancia, la frecuencia de ovejas observadas echadas fue baja (9,1% para SSAM y 10,0% para CSBTAM). Las ovejas del grupo SS durante CSBTAM presentaron una frecuencia de 52,5% y 27,3% de hiperventilación, respectivamente, reflejando mejor bienestar térmico en el tratamiento con disponibilidad de sombra. El acceso a sombra, a libre voluntad, durante las horas de pastoreo, no afectó el perfil hormonal de P_4 y cortisol durante los primeros 42 d de gestación. Lo anterior sugiere un mecanismo adaptativo de la raza West African que le permite tolerar el estrés calórico sin afectar notablemente su reproducción.

Palabras clave: Cortisol; progesterona; ovejas; conducta; pastoreo; sombra

INTRODUCCIÓN

En algunas regiones tropicales, la temperatura ambiente y la radiación solar son elevadas durante la mayor parte del año, por lo que la disponibilidad de sombra para el resguardo de los rumiantes, durante el pastoreo, es primordial y podría reducir el estrés calórico (EC) en éstos. Bajo EC los animales desarrollan estrategias conductuales y metabólicas adaptativas que reducen su productividad. Entre ellas, la disminución en el consumo de alimento y el tiempo dedicado al pastoreo [1], incremento del tiempo dedicado a la búsqueda de sombra [2], incremento en el número de animales observados de pie [3] y por lo tanto, reducción del tiempo de descanso, incremento en el consumo de agua [4] y cambios del ritmo circadiano con incremento de actividades nocturnas [5]. Sin embargo, investigaciones sobre la conducta durante el pastoreo de ovinos de pelo, bajo condiciones de EC, parecen ser inexistentes en el trópico americano.

La hormona cortisol, secretada por la corteza adrenal, es considerada el mejor indicador biológico de respuesta al estrés [6], habiéndose reportado su efecto sobre funciones reproductivas, tanto en vacas [7] como en ovejas [8]. En ovejas, Corriedale, se han reportado diferencias [9] en las concentraciones de cortisol durante el invierno (12,3 ng/mL) vs el verano (15,4 ng/mL). Más recientemente, se reportó el incremento progresivo de cortisol (1,7±1,6; 11,8±5,3 y 16,9 ±5,1 ng/mL, respectivamente) en ovejas expuestas a 16, 30 y 50 °C de temperatura ambiental (TA) [10].

the morning, as well as in the afternoon (98.5%). Similarly, the proportion of laid sheep observed was 9.1% for NAS and 10% for AS, with a frequency of hyperventilation of 52.5% and 27.3%, respectively, reflecting a better thermal comfort in the group with available shade. Free availability to shade during the grazing hours, did not affect the hormonal profile during the first 42 hours of gestation. This suggests an adaptive mechanism of the West African breed that allows it to tolerate heat stress, without notably affecting their reproductive status.

Key words: Cortisol; progesterone; ewes; grazing; shade

Durante la fase folicular del ciclo estral en ovejas, las altas concentraciones de cortisol inhiben el desarrollo folicular y el pico preovulatorio de LH [11]. Durante la fase luteal, en cambio, la administración exógena de cortisol prolonga la duración del diestro tanto en cabras [12] como en vacas [13].

Parece existir una asociación positiva entre progesterona (P_4) y cortisol. Esto se debe a que en la síntesis de cortisol se origina colateralmente un progestágeno de origen adrenal [14], potencialmente capaz de distorsionar la lectura de las concentraciones de P_4 de origen luteal [15]. No obstante, estudios al respecto son contradictorios en vacas lecheras [16] y pequeños rumiantes [15, 17-19]. Los efectos de los altos niveles de cortisol durante los primeros 42 d de gestación en ovejas son desconocidos.

Bajo la hipótesis de que existen diferencias conductuales e incremento de la secreción de P_4 y cortisol en ovejas a pastoreo sin disponibilidad de sombra, el objetivo fue caracterizar la frecuencia de observación de algunos rasgos de conducta y evaluar el efecto de la disponibilidad de sombra artificial sobre el perfil de P_4 y cortisol durante los primeros 42 d de la gestación en ovejas West African mantenidas a pastoreo en condiciones tropicales.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el Laboratorio Sección de Ovinos del Instituto de Producción Animal (IPA), Facultad de Agronomía, Universidad Central de

Venezuela (10° 14' 49" latitud N). El IPA está localizado a una altitud de 455 msnm, el clima predominante en la zona es seco tropical [20], con una precipitación entre 600-800 mm anuales, concentrada entre los meses de mayo a octubre. La temperatura ambiental promedio es de 26,5°C, con mínimas de 21,1 y máximas de 32°C, la humedad relativa es de ~60% durante los meses secos y de ~80% durante los meses de lluvia [21]. El estudio se llevó a cabo en la época cálida-húmeda (valores de temperatura, humedad y radiación solar elevados), teniendo una duración de 76 d, incluido un periodo de 10 d de acostumbramiento a las condiciones experimentales y protocolo de recolección de muestras sanguíneas. Durante ese tiempo las hembras fueron mantenidas sin contacto con el macho.

Se incluyeron en el ensayo 20 ovejas West African de 2 ó 3 partos, no gestantes, separadas en dos grupos experimentales de 10 ovejas cada uno, manejadas en condiciones de semi-estabulación, con pastoreo de pasto estrella (*Cynodon nlemfluensis*) durante las horas diurnas (8:00-15:00) y confinamiento en corrales techados separados en las horas de la tarde y noche (15:00-8:00). Durante las horas de estabulación, los animales recibieron heno, alimento balanceado comercial (16% de proteína cruda) y bloque multinutricional. Ambos grupos tuvieron libre acceso al agua.

Bajo un diseño completamente aleatorizado, los animales fueron separados en dos tratamientos con 10 repeticiones cada uno, para las variables de conducta durante el pastoreo y ocho repeticiones para las variables endocrinas. Los tratamientos consistieron en: a) Con sombra (CS): pastoreo durante las horas diurnas con disponibilidad de sombra a voluntad, proporcionada por un techado de 30 m² (3 m²/animal). La sombra fue garantizada mediante el uso de un techo elaborado con malla para sombreadero color verde y ubicado en sentido este-oeste a una altura de 2,5 m; b) Sin sombra (SS): pastoreo durante las horas diurnas sin disponibilidad de sombra natural o artificial.

La caracterización del microclima en ambos tratamientos se realizó a través del registro de la temperatura ambiente (TA; °C), humedad relativa (HR; %) y radiación global (RS; W/m²), medidas las 24 h/d, a través de sensores electrónicos conectados a estaciones meteorológicas automáticas ubicadas en

el potrero del tratamiento CS (bajo techo) y en el potrero del tratamiento SS. Como indicador de bienestar térmico basado en los elementos climáticos, se calculó el índice de temperatura y humedad (ITH), aplicando la fórmula planteada por Váltora y Gallardo [22].

Se determinó, dos veces por semana, algunos rasgos de conducta cuantificados como actividades efectuadas por las ovejas durante una hora fresca (AM: 09:00-10:00 h) y una hora cálida (PM: 13:00-14:00 h) del día. En cada hora de medición se realizó un total de seis series de evaluación, a intervalos de 10 min cada uno, conformadas por tantos paneos visuales (*scan sampling*) como actividades fueron determinadas. En cada paneo visual se contó el número de animales que efectuaba la actividad, en forma separada y siempre en este mismo orden: pastoreando, bebiendo agua, rumiando, paradas, echadas y/o hiperventilando, dentro y fuera de la sombra, en el caso del grupo CS. En total, se realizaron 72 observaciones por actividad durante todo el periodo experimental.

Las ovejas se condujeron diariamente del potrero al corral de estabulación respectivo, donde permanecieron hasta el día siguiente. Después de culminado el periodo de acostumbramiento, durante el tiempo de estabulación, se introdujo a cada grupo un macho reproductor por 20 min, con el objeto de detectar celo, y montas efectivas.

Las muestras de sangre para la determinación de P₄ y cortisol en suero fueron tomadas de la vena yugular, dos veces por semana, en día fijo (lunes y jueves). Las concentraciones hormonales se determinaron mediante la metodología de inmunoabsorción unida a enzimas (ELISA), utilizando kits comerciales (*Progesterone ELISA* y *Cortisol ELISA*; DRG *Instruments GmbH Germany*). Para ambas hormonas, el coeficiente de variación intra e inter-ensayo estuvo entre 6-8% y 10-12%, respectivamente. Para establecer el inicio de la gestación se graficó, para cada animal, las concentraciones de P₄ durante todo el periodo experimental y los días de montas efectivas. Se consideró como día de celo cuando la hembra fue receptiva a la monta. Asimismo, se consideró que la monta en la cual la oveja concibió fue aquella en la que coincidían montas efectivas y concentración de P₄ sérica ≤ 1 ng/mL.

Análisis Estadístico

Las variables relacionadas con los rasgos de conducta de las ovejas durante las horas de pastoreo fueron analizadas a través de los métodos gráficos multivariados de análisis factorial de correspondencia (AFC) y análisis de componentes principales (ACP), mediante el paquete estadístico InfoStat/E, versión 2008 [23]. Para ello, se consideró que el determinante de la matriz de correlación fuese ~ 0 , requisito para garantizar la pertinencia del análisis multivariado. Para el AFC se contabilizó y tabuló en una tabla de contingencia el número de veces en el cual un número de animales fue observado haciendo la actividad evaluada (columnas de la tabla de contingencia). Las actividades se contabilizaron según el tratamiento (SS vs. CS), momento de medición (AM vs. PM) y, para el caso del tratamiento CS, si la actividad era realizada bajo (BT) o fuera del toldo (FT; filas de la tabla de contingencia), presentándose los resultados en forma de frecuencia relativa (%). El ACP incluyó las actividades efectuadas por los animales y el valor de los elementos climáticos (TA, HR, RS e ITH), en el momento de cada observación realizada. Se tomó en cuenta que la correlación cofenética fuese ~ 1 .

El resto de las variables fueron analizadas con modelos mixtos (PROC MIXED) REPEATED [24]. El modelo incluyó el efecto de tratamiento (SS vs. CS), día de experimentación (1, 3, 6...32) y su respectiva interacción. Mediante la técnica de Little *et al.* [25], se seleccionó una estructura apropiada de varianza-covarianza. Las medias fueron comparadas con la instrucción PDIFF [24]. Se estableció un nivel de significancia de $P \leq 0,05$.

RESULTADOS

Caracterización Climática

En el Cuadro 1, se presentan las medias diarias y durante las horas de pastoreo de los elementos climáticos evaluados. En el tratamiento CS hubo reducción significativa de la RS ($P \leq 0,01$); sin embargo, estuvo acompañado de incrementos en la TA ($P > 0,05$), HR e ITH ($P \leq 0,01$). La mayor TA y la menor HR se presentaron de las 13:00 a 16:00 h ($P \leq 0,01$). La máxima RS se presentó entre las 11:00 y 13:00 h ($P \leq 0,01$). Los valores de ITH más elevados se presentaron entre las 13:00 y 16:00 h (~ 80 unidades) y los menores entre las 05:00 y 06:00 h (~ 70 unidades) ($P \leq 0,01$).

Rasgos de Conducta a Pastoreo

Los resultados de las actividades evaluadas según el AFC se presentan en las Figuras 1 y 2. El pastoreo fue una actividad a la que las ovejas dedicaron tiempo, tanto AM como PM (SSAM: 83,3%; SSPM: 57,6%; CSFTAM: 81,8%; CSFTPM: 56,0%). Durante AM no se observaron ovejas pastoreando bajo el toldo (CSBTAM), pero en PM la frecuencia fue 15% (CSBTM) (Figura 1a). Muy pocos animales fueron observados bebiendo agua. Sin embargo, la mayor proporción de ovejas bebiendo agua se presentó en horas de la tarde (Figura 1b). Similares resultados fueron presentados para la actividad rumiando (Figura 1c), la cual fue escasamente observada en la mayoría de los ambientes físicos evaluados. Pese a ello, en horas de la mañana los animales de los grupos SSAM y CSBTAM fueron observados rumiando, con una frecuencia de 9,1 y 11,7%, respectivamente. Los animales con acceso a sombra usaron el toldo para rumiar. La mayoría de las ovejas se observaron paradas en los potreros (Figura 2a), sobre todo en el tratamiento SS, tanto AM (80,3%) como PM (98,5%). En horas de la mañana, las ovejas del tratamiento CS no fueron observadas paradas bajo la sombra; sin embargo, en PM, con una frecuencia de 33,7%, se observó a la mayoría de las ovejas de pie BT. En contraposición, la frecuencia de ovejas echadas (Figura 2b) fue baja, aunque superior en horas de la mañana (9,1% para SSAM y 10,0% para CSBTAM). Respecto a la hiperventilación, pocas ovejas fueron observadas efectuando esta actividad en horas de la mañana. No obstante, en PM, con una frecuencia de 52,5 y 27,3%, las ovejas de los grupos SSPM y CSFTPM, respectivamente, se observaron hiperventilando (Figura 2c).

El Cuadro 2, muestra las correlaciones que resultaron significativas ($P \leq 0,05$) y/o presentaron una tendencia ($P \leq 0,10$), entre los elementos climáticos y las actividades efectuadas por las ovejas. En la Figura 3 se observan gráficamente dichas relaciones.

Perfiles de Progesterona y Cortisol

En el tratamiento SS, hubo que eliminar los datos de dos animales, por presentar valores de P_4 que no pudieron asociarse con animales cíclicos, quedando seis animales en este tratamiento. La Figura 4 muestra los valores de P_4 y cortisol durante los primeros 42 d de gestación. Como no se presentó

Cuadro 1. Promedio (medias por mínimos cuadrados \pm error estándar [MMC + EE]) del valor de los diferentes elementos climáticos observados en el día y horas de pastoreo durante el período de experimentación para los grupos SS y CS

| Elemento climático | SS | CS | Diferencia CS-SS |
|---------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------|
| Durante el día | | | |
| TA (°C) | 27,0 \pm 0,1 | 27,1 \pm 0,1 | +0,1 |
| HR (%) | 60,6 \pm 0,4 ^b | 68,2 \pm 0,4 ^a | +7,6 |
| RS (W/m ²) | 189,9 \pm 4,5 ^a | 39,1 \pm 4,5 ^b | -150,8 |
| ITH (unidades) | 74,9 \pm 0,1 ^b | 76,0 \pm 0,1 ^a | +1,1 |
| Horas de pastoreo (08:00-15:00) | | | |
| TA (°C) | 30,6 \pm 0,1 | 30,8 \pm 0,1 | +0,2 |
| HR (%) | 45,3 \pm 0,6 ^b | 53,7 \pm 0,6 ^a | +8,4 |
| RS (W/m ²) | 492,6 \pm 7,2 ^a | 104,8 \pm 7,2 ^b | -387,8 |
| ITH (unidades) | 77,9 \pm 0,1 ^b | 79,6 \pm 0,1 ^a | +1,7 |

^{ab} Diferentes superíndices, entre columnas, indican diferencia significativa ($P \leq 0,01$); TA = temperatura ambiente; HR = humedad relativa; RS = radiación solar; ITH = Índice de temperatura-humedad.

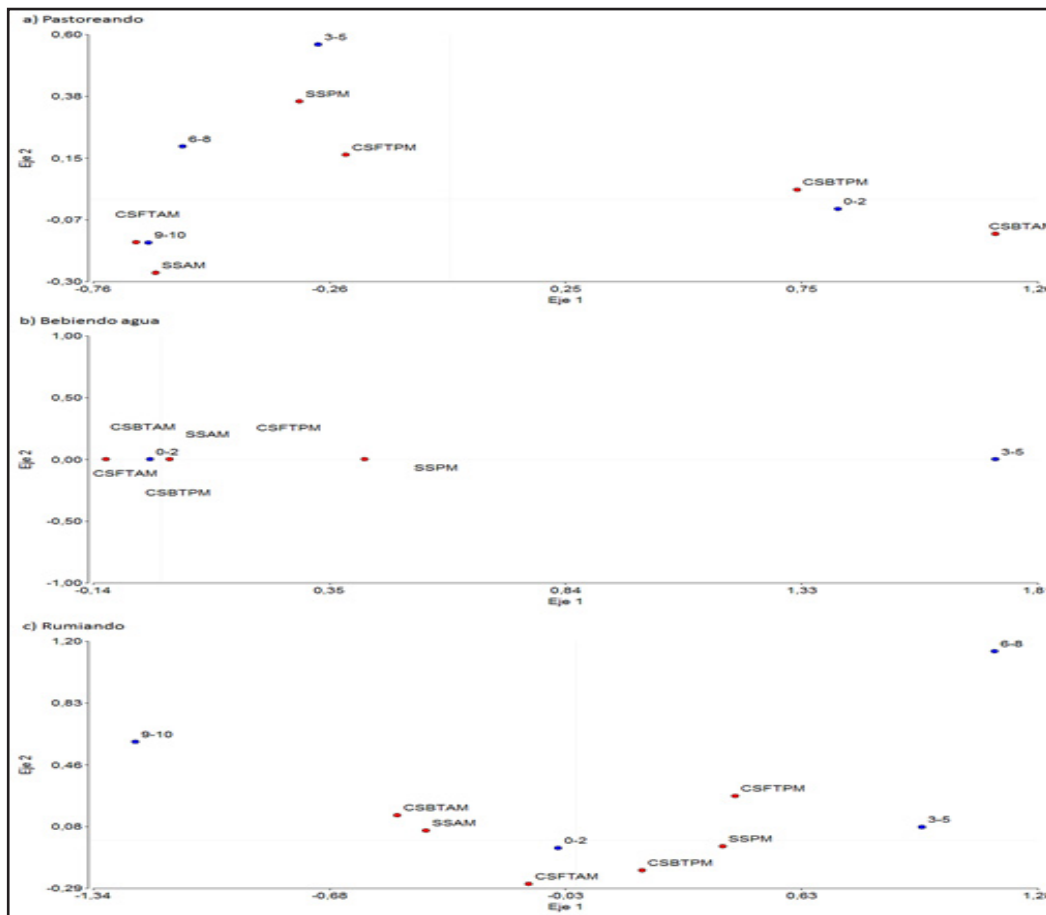


Figura 1. Representación gráfica, según el análisis factorial de correspondencia, de los rasgos de conducta pastoreando (a), bebiendo agua (b), rumiando (c). El número de animales observado realizando la actividad fue agrupado en: 0-2; 3-5; 6-8 y 9-10. SSAM: animales sin acceso a sombra durante las horas de la mañana; CSBTAM: animales con acceso a sombra realizando la actividad bajo el techo en horas de la mañana; CSFTAM: animales con acceso a sombra realizando la actividad fuera del techo en horas de la mañana; SSPM: animales sin acceso a sombra durante las horas del mediodía; CSBTM: animales con acceso a sombra realizando la actividad bajo el techo en horas del mediodía; CSFTM: animales con acceso a sombra realizando la actividad fuera del techo en horas del mediodía.

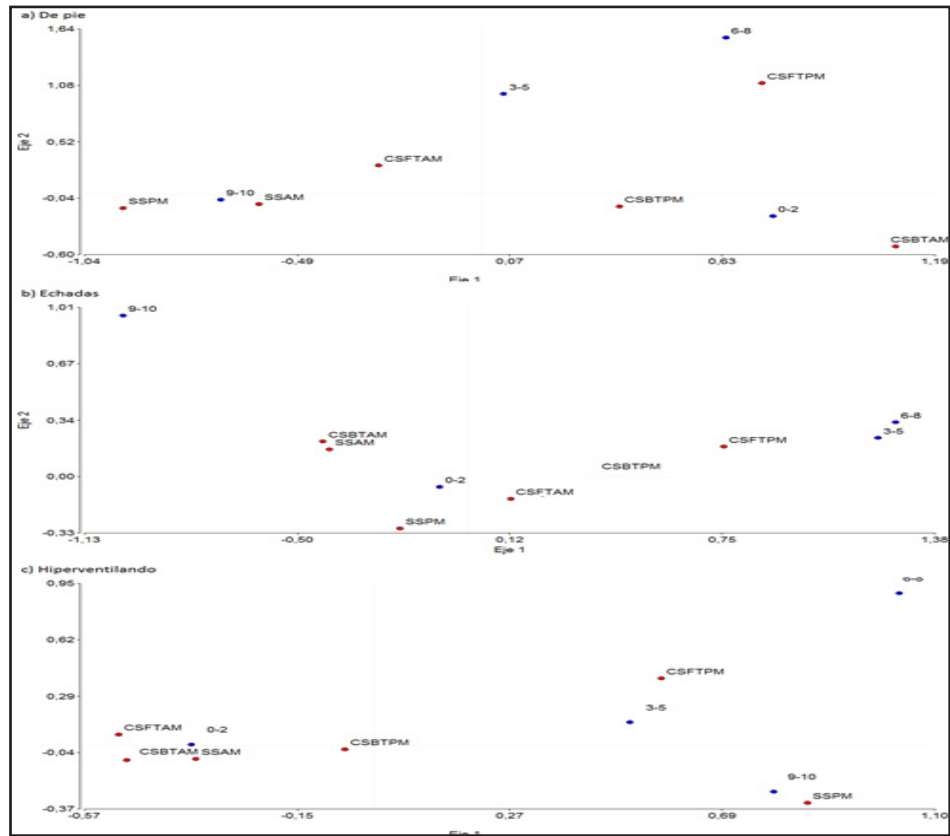


Figura 2. Representación gráfica, según el análisis factorial de correspondencia, de los rasgos de conducta de pie (a), echadas (b) e hiperventilando (c). El número de animales observado realizando la actividad fue agrupado en: 0-2; 3-5; 6-8 y 9-10. SSAM: animales del grupo sin acceso a sombra durante las horas de la mañana; CSBTAM: animales con acceso a sombra realizando la actividad bajo el techo en horas de la mañana; CSFTAM: animales con acceso a sombra realizando la actividad fuera del techo en horas de la mañana; SSPM: animales sin acceso a sombra durante las horas del mediodía; CSBTPM: animales con acceso a sombra realizando la actividad bajo el techo en horas del mediodía; CSFTPM: animales con acceso a sombra realizando la actividad fuera del techo en horas del mediodía.

efecto del tratamiento ($P > 0,05$) sobre ninguna de las hormonas evaluadas, se presentan las medias globales. Las concentraciones de P_4 fueron variables de acuerdo al día de la gestación, observándose valores bajos al inicio (días 1, 3 y 7) y valores máximos los días 10, 14 y 21 al 35 ($P \leq 0,01$); las medias \pm EE (ng/mL) por tratamiento, fueron $8,9 \pm 1,5$ en SS y $8,2 \pm 1,5$ en CS. Para cortisol, los valores estuvieron en el rango de 25,6 y 42,1 ng/mL; con medias \pm EE por tratamiento de $35,4 \pm 4,4$ ng/mL en SS y $32,7 \pm 4,4$ ng/mL en CS.

Aunque no fue un objetivo de la presente investigación, al analizar los perfiles de P_4 durante el ciclo estral completo, se observó efecto del tratamiento ($2,4 \pm 0,3$ ng/mL para SS y $1,3 \pm 0,2$ ng/mL para CS; $P \leq 0,01$), fase del ciclo ($0,2 \pm 0,03$ ng/mL en la fase folicular y $3,5 \pm 0,3$ ng/mL en la fase luteal; $P \leq 0,01$) e interacción tratamiento x fase del ciclo estral ($P \leq 0,05$).

Adicionalmente, el día 12 hubo una tendencia de mayores valores de P_4 en SS vs. CS ($P = 0,08$).

DISCUSIÓN

El efecto de las variables climáticas sobre las respuestas de los animales ha sido documentado [26]. Inicialmente, como parte de los mecanismos de adaptación ante diversas situaciones climáticas, los animales recurren a modificaciones conductuales. En el presente experimento se observó una clara relación entre algunas variables ambientales y las conductas evaluadas.

La TA tiene efecto sobre la conducta de pastoreo, reduciéndola, e incrementa la frecuencia de ovejas observadas hiperventilando (Cuadro 2; Figura 3). De hecho, aunque el consumo de pasto fue una actividad de alta frecuencia de observación, es decir,

Cuadro 2. Correlación entre los rasgos de conducta de las ovejas y los elementos climáticos

| Variable A | Variable B | R | Probabilidad |
|------------------------|-------------------------------|-------|--------------|
| Pastoreando al sol | Temperatura ambiente | -0,99 | P≤0,01 |
| Pastoreando al sol | Índice de temperatura-humedad | -0,91 | P≤0,10 |
| Pastoreando al sol | Hiperventilando al sol | -0,92 | P≤0,10 |
| Pastoreando bajo techo | Hiperventilando bajo techo | +0,96 | P≤0,05 |
| Pastoreando bajo techo | Paradas bajo techo | +1,00 | P≤0,01 |
| Bebiendo agua al sol | Radiación solar | +0,95 | P≤0,05 |
| Bebiendo agua al sol | Paradas al sol | +0,99 | P≤0,05 |
| Rumiando bajo techo | Radiación solar | -0,92 | P≤0,10 |
| Rumiando bajo techo | Echadas bajo techo | +1,00 | P≤0,01 |
| Rumiando bajo techo | Rumiando al sol | -0,91 | P≤0,10 |
| Rumiando al sol | Echadas bajo techo | -0,93 | P≤0,10 |
| Paradas al sol | Radiación solar | +0,98 | P≤0,05 |
| Paradas bajo techo | Hiperventilando bajo techo | +0,93 | P≤0,10 |
| Echadas bajo techo | Radiación solar | -0,90 | P≤0,10 |
| Hiperventilando al sol | Temperatura ambiente | +0,95 | P≤0,10 |
| Hiperventilando al sol | Humedad relativa | -0,96 | P≤0,05 |
| Temperatura ambiente | Humedad relativa | -0,90 | P≤0,10 |

una actividad a la cual las ovejas dedicaron tiempo, las mismas prefirieron pastorear en horas de la mañana, cuando la TA es menor (Figura 1a). Resultados similares fueron reportados en un estudio sobre uso del tiempo, efectuado por Zambrano *et al.* [27], en ovinos, durante la época seca en los Llanos Occidentales de Venezuela (52,9% pastoreo en la mañana *vs.* 35,3% pastoreo en la tarde; P≤0,05). Contrariamente, Pompeu *et al.* [28] reportan mayor frecuencia de ovinos en pastoreo entre las 11:00 y 14:00 h (71,4%; TA= 34,7 °C) en animales suplementados y entre las 14:00 y 17:00 h (72,0%; TA= 33,3 °C) en animales sin suplementación; los autores asocian estas respuestas a compensaciones nutricionales que obligan a los animales a regresar al pastoreo desde

los lugares de descanso y sombra proporcionados. Más recientemente, Solórzano-Montilla *et al.* [29] evaluaron la utilización del tiempo en borregas West African en crecimiento manejadas en condiciones de semi-estabulación y señalan que la principal actividad realizada por los animales fue el pastoreo (entre 65,2 y 71% del tiempo), lo que implica que las borregas tratan de utilizar las horas de pastoreo al máximo, de manera de poder cubrir sus necesidades de ingestión de materia seca.

Los ovinos son capaces de aumentar su frecuencia respiratoria con el jadeo, para mejorar la evaporación a través del aparato respiratorio [3], como un mecanismo de disipación de calor. La mayor frecuencia de ovejas hiperventilando se presentó en SSPM. La regulación

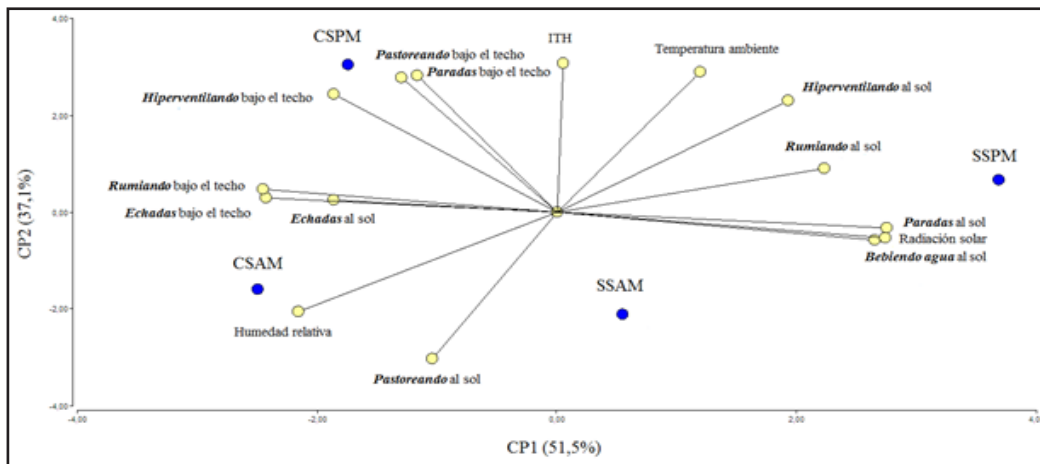


Figura 3. Representación gráfica de la relación entre los elementos climáticos y los rasgos de conducta de las ovejas durante el pastoreo según el análisis de componentes principales. SSAM: Sin sombra durante la mañana; SSPM: Sin sombra durante la tarde; CSAM: Con sombra durante la mañana; CSPM: Con sombra durante la tarde

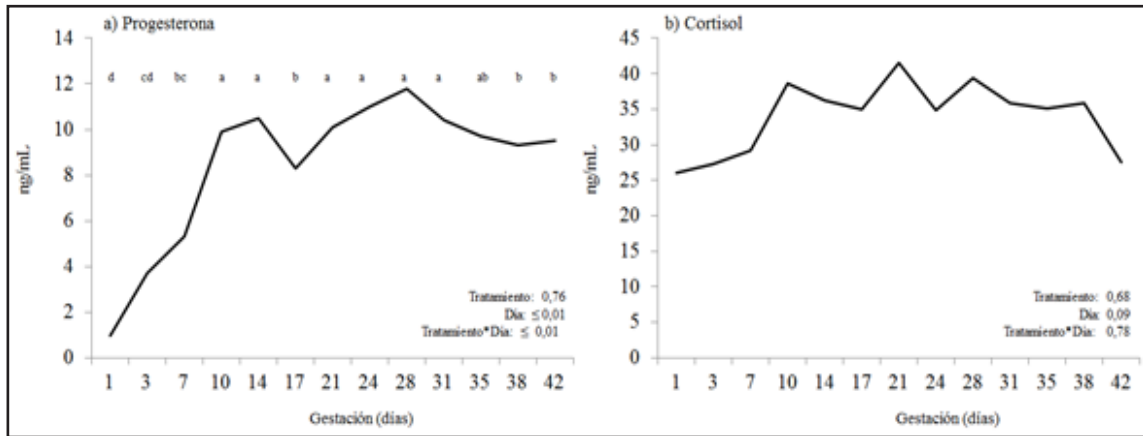


Figura 4. Concentración de progesterona (a) y cortisol (b) durante los primeros 42 d de gestación en ovejas adultas *West African* con disponibilidad o no de sombra durante las horas de pastoreo

corporal del calor también es conductual [3, 26]. Cuando la TA es alta, las ovejas buscan sitios de resguardo. En concordancia con esto, las actividades paradas e hiperventilando BT, tuvieron alta relación en el grupo CSPM (Cuadro 2; Figura 3), es decir, las ovejas usan el área sombreada para hiperventilar en posición de pie en horas de la tarde.

Aunque la frecuencia de animales observados bebiendo agua fue baja, la misma estuvo positivamente correlacionada con la RS, siendo una actividad predominantemente efectuada en las mañanas. No obstante, Pompeu *et al.* [28] señalan que existe mayor consumo de agua en las horas más calientes del día y asocian esta respuesta con la necesidad de los animales de reponer líquido que se pierde con la evaporación respiratoria. La condición de semi-estabulación, con animales acostumbrados a permanecer en corrales durante las últimas horas de la tarde y las horas de la noche, con suministro de agua durante ese periodo, tal como fue el manejo habitual del rebaño en este experimento, pudo influir en los resultados.

La RS observada durante las horas de pastoreo influyó sobre la posición corporal tomada por las ovejas. De esta forma, en horas de alta RS y cuando los animales no disponían de sombra, la frecuencia de ovejas paradas fue mayor. Permanecer paradas podría reducir la producción de calor endógeno mediante la reducción de la actividad motora y además podría potenciar mecanismos de enfriamiento [3, 30]. Así mismo, la adopción de una postura frontal hacia el sol pudiese interpretarse como una estrategia para reducir la superficie corporal expuesta y en consecuencia, reducir la captación de RS. Desafortunadamente, en este estudio no se determinó la posición de los animales

con respecto al sol cuando estuvieron parados en el potrero.

La frecuencia de observación de animales rumiando fue baja y se presentó principalmente en horas de la mañana, en posición echada. Las ovejas con disponibilidad de sombra usaron el área sombreada para rumiar. Según Pompeu *et al.* [28], la actividad de rumiar se reduce significativamente en los momentos de mayor frecuencia de alimentación, lo que concuerda con los resultados aquí presentados. Estos autores, también reportan incrementos en la intensidad de la rumia a partir de las 20:00 h, concluyendo que los ovinos presentan hábitos propios de pastoreo diurno y rumia nocturna, cuando son comparados con otros rumiantes, hábito éste que pudo haber influido en los resultados aquí presentados. Asimismo, estos mismos autores [28] señalan que los animales que rumian en las horas de mayor calor lo hacen parados, mientras que los que rumian en horas de la madrugada, lo hacen echados, alternando esta actividad con la actividad de dormir.

En referencia a los perfiles hormonales durante los primeros 42 d de gestación, en la presente investigación no se observó evidencia de variaciones en éstos debido a la ausencia de sombra (Figura 4), siendo los valores observados ligeramente superiores a los reportados por otros autores [31-32], para el caso de P_4 y del cortisol [9, 33, 34].

El efecto del estrés calórico sobre los niveles de P_4 en rumiantes ha sido poco estudiado, siendo los reportes contradictorios. Uribe-Velásquez *et al.* [18] en cabras y Rodríguez *et al.* [19] en ovejas, plantean que las altas temperaturas no tienen efectos sobre las concentraciones de P_4 . En ambos estudios, las

condiciones de estrés fueron simuladas con cámaras climáticas, con periodos de exposición entre 6 a 8 h y sólo durante la fase de evaluación, por lo que no reflejan condiciones crónicas de estrés. Balara *et al.* [35], no reportan diferencias en las concentraciones de P_4 (ng/mL) en ovejas cíclicas entre el verano ($3,3 \pm 0,9$) y el invierno ($2,7 \pm 0,6$), en Brasil. Contrariamente, en vacunos, Ponce [16] reporta niveles elevados de esta hormona durante el ciclo estral de vacas lecheras en condiciones de estrés térmico sin acceso a sombra; mientras que Hill y Alliston [17] observaron una disminución en los niveles plasmáticos de P_4 en ovejas bajo igual condición.

Investigaciones recientes destacan los efectos ansiolíticos y sedativos de la P_4 [36]. Es interesante observar que mientras las ovejas no estuvieron gestantes, los valores de P_4 durante el ciclo estral fueron mayores en el grupo SS que en el CS. Pinto-Santini *et al.* [15] reportan valores superiores de P_4 acumulada en corderas pre-púberes sin disponibilidad de sombra durante las horas de pastoreo. Los niveles de esta hormona pudieran constituir un biomarcador de estrés y/o tolerancia al estrés en ovinos, no estando claras las implicaciones reproductivas de esta observación. No obstante, las concentraciones de cortisol obtenidas en esta experiencia son similares a las reportadas en condiciones de estrés agudo por transporte en cabras [37] y aislamiento en ovinos [38]. La elongación e implantación embrionaria dependen de complejas interacciones entre el *conceptus* y el endometrio uterino. Éstas están reguladas por la acción individual, aditiva y sinérgica entre la P_4 de origen ovárico, el interferon *tau* secretado por el trofoblasto y las prostaglandinas y el cortisol de origen endometrial y embrionario [39], respectivamente. Las elevadas concentraciones séricas de cortisol observadas en esta experiencia no afectaron la fertilidad de las ovejas. En tal sentido, pareciera que los niveles de P_4 , levemente elevados al inicio de la gestación, constituyen una importante adaptación endocrina que reduciría el impacto de la condición de estrés a nivel uterino favoreciendo la síntesis de factores intra ováricos que favorecieron la fertilidad de las ovejas.

CONCLUSIONES

El rasgo de conducta más frecuentemente observado fue el pastoreo, sobre todo en las horas frescas del día. Pese a ello, las ovejas con disponibilidad de sombra usan el toldo para resguardarse y rumiarse.

El consumo de agua fue bajo en ambos grupos, observándose principalmente en horas de la tarde. La posición de pie fue común, sobre todo cuando no hubo disponibilidad de sombra y estuvo acompañada de hiperventilación, siendo que ambos mecanismos favorecen la disipación de calor. A pesar del mejor bienestar térmico en las ovejas con sombra, no se presentaron efectos de la misma sobre los perfiles hormonales del inicio de la gestación. Los altos niveles de cortisol probablemente fueron contrarrestados con el incremento de P_4 , por lo que la fertilidad de las ovejas no se vio afectada. Lo anterior sugiere un mecanismo adaptativo de la raza West African que le permite tolerar el estrés calórico sin afectar notablemente su reproducción.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo es parte del proyecto PG-01-8308-2011/2, financiado por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela (CDCH-UCV).

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores no reportaron conflictos de interés.

APORTE DE LOS AUTORES

LPS: Diseño experimental, análisis estadístico, redacción del documento; JC: experimento en campo; TC: experimento en campo; AZR: análisis de laboratorio, redacción del documento; ALH: Diseño experimental, redacción del documento.

REFERENCIAS

- [1] Brown-Brandl TM, Nienaber JA, Eigenberg RA, Mader TL, Morrow JL, Dailey JW. Comparison of heat tolerance of feedlot heifers of different breeds. *Livest Sci.* 2006; 105:19-26.
- [2] Vizzotto EF, Fischer V, Thaler Neto A, Abreu AS, Stumpf MT, Werncke D, *et al.* Access to shade changes behavioral and physiological attributes of dairy cows during the hot season in the subtropics. *Animal.* 2015; 9(9):1559-1566.
- [3] Parente HN, Zanine AM, Santos EM, Ferreira DJ, Oliveira JS. Comportamento ingestivo de ovinos em pastagem de tifton 85 (*Cynodon ssp.*) na Região Nordeste do Brasil. *Rev Ciência Agron Ceará.* 2007;

- 38(2):210-215.
- [4] Silanikove N. Effect of dehydration on feed intake and dry matter digestibility in desert (Black Bedouin) and non-desert (Swiss Saanen) goats fed on lucerne hay. *Comp Biochem Physiol* 1985; 80 (3):449-452.
- [5] Silanikove N. Impact of shelter in hot Mediterranean climate on feed intake, feed utilization and body fluid distribution in sheep. *Appetite*. 1987; 9 (3):207-215.
- [6] Romero MH, Uribe-Velásquez LF, Sánchez JA. Biomarcadores de estrés como indicadores de bienestar animal en ganado de carne. *Biosalud*. 2011; 10 (1):71-87.
- [7] Dobson H, Smith RF. What is stress, and how does it affect reproduction? *Anim Reprod Sci*. 2000; (2):743-52.
- [8] Smith RF, Ghuman SP, Evans NP, Karsch FJ, Dobson H. Stress and the control of LH secretion in the ewe. *Reprod Suppl*. 2003; (61):267-82.
- [9] Starling JMC, Silva RG, Negrão JA, Maia ASC, Bueno AR. Variação estacional dos hormônios tireoideanos e do cortisol em ovinos em ambiente tropical. *Rev Bras Zootec*. 2005; 34 (6): 2064-2073.
- [10] Cwynar P, Kolacz R, Czerski A. Effect of heat stress on physiological parameters and blood composition in Polish Merino rams. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*. 2014; 127:177-182.
- [11] Macfarlane MS, Breen KM, Sakurai H, Adams BM, Adams TE. Effect of duration of infusion of stress-like concentrations of cortisol on follicular development and the preovulatory surge of LH in sheep. *Anim Reprod Sci*. 2000; 63 (3-4):167-175.
- [12] Alam MG, Ahmed JU, Jahan S. Effect of dexamethasone on the estrous cycle length in Black Bengal goats (*Capra hircus*). *Theriogenology*. 1989; 31 (4):935-941.
- [13] Maciel SM, Chamberlain CS, Wettemann RP, Spicer LJ. Dexamethasone influences endocrine and ovarian function in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2001; 84 (9):1998-2009.
- [14] García-Sacristán A, Castejón Montijano F, de la Cruz Palomino LF, González Gallego J, Murillo López de Silanes MD, Salido Ruiz G. *Fisiología Veterinaria*. McGraw-Hill. 1era. Reimpresión. 1996; 1069 p.
- [15] Pinto-Santini L, Pigliacampo A, Drescher K, Fonseca J, Landaeta A. 2016. Effect of the availability of artificial shade during grazing on progesterone concentration in *West African* lambs before puberty in the tropic. 18th Int Congress on Anim Reprod 26-30 Jun. 2016. Tours, France.
- [16] Ponce HR. Efectos de estrés térmico sobre la fertilidad del ganado bovino. *Cien Vet*. 1978; 2: 265-288.
- [17] Hill TG, Alliston CW. Effects of thermal stress on plasma concentrations of luteinizing hormone, progesterone, prolactin and testosterone in the cycling ewe. *Theriogenology*. 1981; 15 (2):201-209.
- [18] Uribe-Velásquez L, Oba E, Brasil LHA, de Sousa FN, Wechsler FS. Efeitos do estresse térmico nas concentrações plasmáticas de progesterona (P_4) e estradiol 17- β (E2) e temperatura retal em cabras da raça Pardo Alpina. *Rev Bras Zootec*. 2001; 30(2):388-393.
- [19] Rodríguez M, Montaldo HH, Balcázar JA, Hernández J. Niveles de progesterona sérica en ovejas Pelibuey y Suffolk sometidas a estrés térmico. *Vet Méx*. 2009; 40 (2):197-202.
- [20] Holdrige LR. *Ecología basada en zonas de vida*. IICA, San José, Costa Rica 1972; 12 p.
- [21] USI-CLIMA. 2012. Unidad de Servicios Integrados Climatológicos para la Investigación en Agricultura y Ambiente. FAGRO-UCV. Cátedra de Climatología Agrícola.
- [22] Váltora S, Gallardo M. El estrés por calor en la producción lechera. El estrés por calor en producción lechera. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (Ed). *Miscelánea*. 1996; (81):173-185.
- [23] Di Rienzo J, Casanoves F, Balzarini M, González L, Tablada M, Robledo C. *InfoStat*, versión 2008, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina 2008.
- [24] SAS Institute Inc., *SAS 9.1.3 Help and Documentation*, Cary, NC: SAS Institute Inc., 2000-2004.
- [25] Littell R, Henry R, Ammerman C. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *J Anim Sci*. 1998; 76: 1216-1231.
- [26] Aggarwal A, Upadhyay R. *Heat Stress and Animal Productivity*. Springer India 2013; p200.
- [27] Zambrano C, Altuve E, Zambrano L, Párraga C. Conducta de ovinos a pastoreo en sistema silvopastoril tradicional con predominio de Samán (*Pithecellobium saman*) y Guácimo (*Guazumaulmi folia*). *Rev Unell Cienc Tec* 2010; 29-34.
- [28] Pompeu RCFF, Rogério MCP, Cândido MJD, Neiva JNM, Guerra JLL, Gonçalves JS. Comportamento de ovinos emcapim-tanzânias oblotação rotativa com quatro níveis de suplementação concentrada. *R. Bras Zootec*. 2009; 38(2):374-383.
- [29] Solorzano-Montilla J, Pinto-Santini L, Camacaro-Calvete S, Vargas-Guzmán D, Rios de Álvarez L. Effect of the presence of shade in sheep grazing areas. 2. Animal activity. *Pastos y Forrajes*. 2018;41 (1): 39-46.
- [30] Filho HO, Barbosa OR, Sakaguti ES, Onorato WM, Macedo FAF. Efeito da sombra natural e da tosquia no comportamento de ovelhas das raças Texel e Hampshire

- Down, ao longo do período diurno, no Nordeste do Estado do Paraná. *Anim Sci Acta Scientiarum*. 2001; 23(4):981-993.
- [31] Sarda IR, Robertson HA, Smeaton TC. Sequential changes in plasma progesterone levels in the ewe during the estrous cycle, and during pregnancy in intact and ovariectomized sheep. *Can J Anim Sci*. 1973; 53 (1):25-34.
- [32] López A, Santiago J, de Bulnes AG de, García M. Aspectos característicos de la fisiología reproductiva de la oveja. *Rev Cient FCV-LUZ*. 1993; 3(2):123-133.
- [33] Brinklow BR, Forbes JM. The effect of short and skeleton long photoperiods on the plasma concentrations of prolactin and cortisol in sheep. *Reprod Nutr Develop*. 1984; 24(2):107-116.
- [34] Kruger LP, Nedambalea TL, Scholtz MM, Webb EC. The effect of environmental factors and husbandry practices on stress in goats. *Small Ruminant Res*. 2016; 141:1-4.
- [35] Balara MF, Brandão FZ, Peneiras AB, Oba E, da Fonseca JF, Almosny NR, *et al*. Reproductive performance, metabolic and hormonal profiles of Santa Inês ewes in winter and summer under tropical conditions. *Trop Anim Health Prod*. 2015; 47 (3):627-631.
- [36] Freitas-de-Melo A, Ungerfeld R. Progesterona y respuesta de estrés: mecanismos de acción y sus repercusiones en rumiantes domésticos. Revisión. *Rev Mex Cienc Pecu*. 2016; 7(2):185-199.
- [37] Aoyama M, Maejima Y, Keyaki S, Muroi M, Tohei A, Sugita S. Effects of androgen on plasma levels of adrenocorticotrophic hormone and cortisol during transportation in goats. *J Vet Med Sci*. 2005; 67 (11):1109-1114.
- [38] Ehnert K, Moberg GP. Disruption of estrous behaviour in ewes by dexamethasone or management-related stress. *J Anim Sci*. 1991; 69 (7):2988-2994.
- [39] Brooks K, Burns G, Spencer TE. 2014. Conceptus elongation in ruminants: roles of progesterone, prostaglandin, interferon tau and cortisol. *J Anim Sci Biotechnol*. 2014; 5 (1):53-57.