

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

RESPUESTA DE ESTRÉS AGUDO A LA ESQUILA INVERNAL EN CARNEROS

por

Paula MEERHOFF

TESIS DE GRADO presentada como uno de
los requisitos para obtener el título de Doctor
en Ciencias Veterinarias
Orientación: Medicina Veterinaria

MODALIDAD Ensayo Experimental

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2024**

PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de Grado aprobada por:

Presidente de Mesa:



Dra. Messy Hannear de Andrade
Pantoja

Segundo Miembro (Tutor):



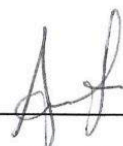
Dra. Madeleine Guerrero

Tercer Miembro:



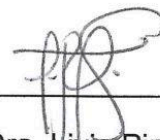
Dr. Fabián Rodao

Cuarto Miembro:



Dra. Aline Freitas de Melo

Quinto Miembro:



Dra. Livia Pinto-Santini

Fecha:

19 de Diciembre de 2024

Autor:



Paula Meerhoff

AGRADECIMIENTOS

A mis tutoras Madeleine Guerrero, Aline Freitas de Melo y Livia Pinto Santini, por su orientación, paciencia y apoyo. Por siempre contestar mis dudas y estar dispuestas a ayudarme a avanzar.

A todos los colaboradores que participaron en la realización del experimento, su dedicación fue fundamental para el éxito de esta investigación.

Miembros del comité evaluador.

A mi familia, en especial a mis padres por su apoyo incondicional y por siempre alentarme a alcanzar mis metas.

A mis amigos, por su compañía y ánimo.

TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN.....	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
TABLA DE CONTENIDO.....	4
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS.....	6
Lista de Cuadros.....	6
Lista de Figuras.....	6
RESUMEN.....	7
SUMMARY.....	8
1. INTRODUCCIÓN.....	9
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	11
2.1. Producción ovina en Uruguay.....	11
2.2. Esquila.....	12
2.3. Estrés y estresores.....	12
2.4. Respuesta de estrés aguda e indicadores de estrés.....	14
2.4.1. Respuesta de estrés aguda e indicadores de estrés a nivel del sistema nervioso simpático.....	14
2.4.2. Respuesta de estrés aguda e indicadores de estrés a nivel del Eje Hipotálamo-hipófiso-adrenal.....	15
2.5. Esquila, respuesta de estrés y termorregulación.....	17
3. HIPÓTESIS.....	18
4. OBJETIVOS.....	19
4.1. Objetivo General:.....	19
4.2. Objetivos específicos:.....	19
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
5.1. Local de estudio, animales y manejo.....	20
5.2. Diseño experimental y procedimiento de esquila.....	21
5.2. Registros.....	23
5.2.1. Variables fisiológicas.....	23
5.2.2. Muestreo y procesamiento sanguíneo.....	24
5.2.3. Indicadores hematológicos y bioquímicos.....	24
5.2.4. Registro ambiental.....	25
5.2.5. Análisis estadístico.....	26
6. RESULTADOS.....	27
6.1. Variables fisiológicas.....	27
6.1.1. Frecuencia cardíaca.....	28
6.1.2. Temperatura rectal.....	29
6.1.3. Temperatura superficial ocular.....	30
6.2. Variables hematológicas.....	31
6.2.1. Hematocrito.....	32
6.2.2. Hemoglobina.....	33
6.2.3. Concentración de las células blancas (leucocitos).....	34

6.3. Variables bioquímicas y concentración de cortisol.....	38
6.3.1. Glucemia.....	39
6.3.2. Proteínas totales.....	40
6.3.3. Albúmina.....	41
6.3.4. Globulinas.....	42
6.3.5. Cortisol.....	43
7. DISCUSIÓN.....	44
8. CONCLUSIONES.....	46
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

Lista de Cuadros

Tabla 1.....	25
Tabla 2.....	27
Tabla 3.....	31
Tabla 4.....	38

Lista de Figuras

Figura 1. Foto ilustrando la distribución en los corrales de los carneros esquilados y no esquilados.....	20
Figura 2. Esquemmatización de la circulación de los carneros durante el experimento de esquila.....	22
Figura 3. Línea de tiempo que representa la frecuencia de determinación de todas las variables, en relación al momento de la esquila.....	23
Figura 4. Imagen ilustrando la región ocular delimitada para la medición de la temperatura superficial ocular en base a termografía.....	24
Figura 5. Frecuencia cardíaca en carneros esquilados (-♦-) o no esquilados (-▼-).....	28
Figura 6. Temperatura rectal en carneros esquilados (-♦-) o no esquilados (-▼-).....	29
Figura 7. Temperatura superficial ocular en carneros esquilados (-♦-) o no esquilados (-▼-).....	30
Figura 8. Hematocrito en carneros esquilados (-♦-) o no esquilados (-▼-).....	32
Figura 9. Hemoglobina en carneros esquilados (-♦-) o no esquilados (-▼-).....	33
Figura 10. Concentración de Leucocitos en carneros esquilados (-♦-) o no esquilados (-▼-).....	34
Figura 12. Concentración de linfocitos en carneros esquilados (-♦-) o no esquilados (-▼-).....	35
Figura 13. Granulocitos absolutos en carneros esquilados (-♦-) o no esquilados (-▼-)...	36
Figura 14. Concentración relativa de granulocitos en carneros esquilados (-♦-) o no esquilados (-▼-).....	37
Figura 15. Glucemia en carneros esquilados (-♦-) o no esquilados (-▼-).....	39
Figura 16. Proteínas totales en carneros esquilados (-♦-) o no esquilados (-▼-).....	40
Figura 17. Albúmina en carneros esquilados (-♦-) o no esquilados (-▼-).....	41
Figura 18. Globulinas en carneros esquilados (-♦-) o no esquilados (-▼-).....	42
Figura 19. Cortisol en carneros esquilados (-♦-) o no esquilados (-▼-).....	43

RESUMEN

La esquila es un manejo habitual en la producción de ovinos lanados que, además de tener un fin productivo, es necesaria para la sanidad y facilidad de los procesos termorreguladores del animal. No obstante, es considerado uno de los manejos más estresantes para el ovino y, durante el invierno, puede alterar en forma drástica su capacidad de termorregulación posesquila. El objetivo de este trabajo fue caracterizar los cambios fisiológicos, hematológicos y bioquímicos agudos debidos a la esquila invernal en carneros. El trabajo experimental se realizó durante el mes de agosto (invierno en el hemisferio sur) con 22 carneros Corriedale que fueron divididos en dos grupos homogéneos según edad, peso corporal y origen. Un grupo fue esquilado (n= 11), mientras que el otro permaneció sin esquilar como grupo control (n= 11). Se determinó la frecuencia cardíaca y la temperatura rectal a los 5 min previos a la esquila, al momento de la esquila, y los 30, 60 y 120 min luego de la esquila. Se determinó la temperatura superficial ocular a los 5 min previos a la esquila, al momento de la esquila, y a los 60 y 120 min luego de la esquila. Se tomaron muestras de sangre para la determinación de los parámetros hematológicos (hematocrito, hemoglobina, leucocitos, concentración relativa de linfocitos, granulocitos absolutos y concentración relativa de granulocitos) y la glucemia a los 60 y 5 min previos a la esquila, al momento de la esquila, y a los 10, 30, 60, 120 y 180 min luego de la esquila. También se extrajo sangre para determinar proteínas totales, albúmina y cortisol, a los 60 y 5 min previos a la esquila, al momento de la esquila, y a los 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120 y 180 min luego de la esquila. La esquila generó cambios de solamente algunos biomarcadores de estrés. Se evidenció un incremento en la concentración sérica de cortisol y en los niveles de glucemia de los carneros esquilados, característico de una respuesta de estrés aguda. Asimismo, se observó un incremento transitorio, inmediatamente después de la esquila, en la frecuencia cardíaca, el hematocrito y la hemoglobina (respuesta de estrés aguda muy corta). Estos resultados indican que, los carneros tuvieron una buena capacidad de mantener la homeostasis ante el estrés de la esquila.

SUMMARY

Shearing is a common practice in wool sheep production that, in addition to having a productive purpose, is necessary for the animal's health and ease of thermoregulation processes. However, it is considered one of the most stressful management practices for sheep and, during winter, can drastically alter their post-shearing thermoregulation capacity. The objective of this study was to characterize the acute physiological, hematological, and biochemical changes due to winter shearing in rams. The experimental work was carried out during the month of August (winter in the southern hemisphere) with 22 Corriedale rams that were divided into two homogeneous groups according to age, body weight, and origin. One group was shorn (n=11), while the other remained unshorn as a control group (n=11). Heart rate and rectal temperature were determined 5 minutes before shearing, at the time of shearing, and 30, 60, and 120 minutes after shearing. Ocular surface temperature was determined 5 minutes before shearing, at the time of shearing, and at 60 and 120 minutes after shearing. Blood samples were taken to determine hematological parameters (hematocrit, hemoglobin, leukocytes, relative lymphocyte concentration, absolute granulocytes, and relative granulocyte concentration) and glycemia levels 60 and 5 minutes before shearing, at the time of shearing, and at 10, 30, 60, 120, and 180 minutes after shearing. Blood was also extracted to determine total proteins, albumin, and cortisol, 60 and 5 minutes before shearing, at the time of shearing, and at 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120, and 180 minutes after shearing. Shearing generated changes in only some stress biomarkers. An increase in serum cortisol concentration and glycemia levels was observed in the shorn rams, characteristic of an acute stress response. Likewise, a transient increase, immediately after shearing, in heart rate, hematocrit, and hemoglobin was observed (very short-term acute stress response). These results indicate that the rams had a good ability to maintain homeostasis in the face of shearing stress.

1. INTRODUCCIÓN

La producción ovina en el Uruguay, a pesar de la disminución de su población en los últimos años, sigue siendo de gran importancia para el sector ganadero (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca [MGAP], 2023). El aporte de la producción de carne y lana ovina al PIB del país en el año 2023 fueron de US\$ 90,8 millones y de US\$ 128,5 millones, respectivamente (MGAP, 2023).

Uruguay es considerado un referente mundial en la producción de lana debido a su calidad (Secretariado Uruguayo de la Lana [SUL], 2022). La majada presenta una estructura criadora, porque predominan las ovejas de cría; sin embargo, los carneros son de gran importancia dentro de la majada, cumpliendo un rol reproductivo (SUL, 2018).

La esquila es un procedimiento esencial en la producción ovina que consiste en cosechar la lana producida por los animales en un periodo determinado de tiempo (Ungerfeld & Freitas-de-Melo, 2021). Este procedimiento se realiza generalmente una vez al año y el momento en que se lleva a cabo depende de factores como el clima, la categoría del animal y el mercado lanero (Ungerfeld & Freitas-de-Melo, 2021). Además de los objetivos productivos, la esquila es necesaria para la higiene, la sanidad y para facilitar los procesos termorreguladores del animal (Arfuso et al., 2022a). No obstante, es un procedimiento que desencadena una marcada respuesta de estrés en los animales, debido a diversos factores como el encierro, la manipulación humana, el ruido de las máquinas de esquila y la pérdida de la lana (Sanger et al., 2011; Ungerfeld & Freitas-de-Melo, 2019; Ungerfeld & Freitas-de-Melo, 2021).

El estrés es un desequilibrio en la homeostasis, que resulta en un patrón de respuesta compensatoria con objetivo primario adaptativo (Earley et al., 2010; Pacák & Palkovits, 2001; Sapolsky, 2004). La respuesta generada no es específica al estresor (Ungerfeld et al., 2024), pero presenta variabilidad entre especies, razas e individuos (Mormède et al., 2007). La respuesta de estrés puede ser aguda o crónica, dependiendo del tiempo que actúa el estresor, o de la duración de sus efectos (Ungerfeld et al., 2024). Estos cambios reflejan la capacidad que tiene el animal para adaptarse a diferentes desafíos, y son considerados negativos cuando generan efectos deletéreos o la respuesta de estrés se mantiene en el tiempo sin lograr la adaptación del animal (Ungerfeld et al., 2024).

La respuesta de estrés se inicia a nivel del sistema nervioso central (SNC), luego que el animal percibe el estresor (Collier & Gebremedhin, 2015). Se desencadenan respuestas fisiológicas comprendidas en la activación del sistema nervioso simpático (SNS) y el eje hipotálamo-hipófiso-adrenal (HHA) (Ungerfeld et al., 2024), que inducen cambios fisiológicos y metabólicos para que el animal pueda enfrentar el desequilibrio homeostático (Ferin, 2006). El SNS responde rápidamente ante la percepción de un estresor, causando la liberación de catecolaminas (adrenalina y noradrenalina), que se unen a los receptores estimulando o inhibiendo la actividad de los órganos blanco (Ungerfeld et al., 2024). La activación del SNS provoca un incremento en la frecuencia cardíaca y respiratoria, en la presión arterial (Damián & Ungerfeld, 2013), en el catabolismo de lípidos (Damián & Ungerfeld, 2013; Ungerfeld et al., 2024), estimulan la gluconeogénesis y la glucogenolisis hepática (Marik & Ballomo, 2013). Además, el estímulo del SNS induce modificaciones en la

distribución del flujo sanguíneo (Ungerfeld et al., 2024), incrementando rápidamente la temperatura corporal, denominado “hipertermia inducida por estrés” (Herborn et al. 2015). La percepción de un estresor también activa el eje HHA, causando la liberación de hormona liberadora de corticotropina (CRH) y vasopresina (VP) (Ungerfeld et al., 2024). La CRH estimula la síntesis y liberación de la hormona adrenocorticotropa (ACTH) (Mormède et al., 2007; Ungerfeld et al., 2024), que a su vez estimula la liberación de glucocorticoides, (cortisol en el caso de los ovinos) (Mormède et al., 2007; Ungerfeld et al., 2024). Los glucocorticoides aumentan la sensibilidad cardiovascular a las catecolaminas y prolongan su acción, además presentan acciones supresoras sobre las reacciones inmunitarias e inflamatorias (Saplosky et al., 2000), pudiendo provocar linfopenia, neutrofilia y eosinopenia (Griffin, 1989). El cortisol promueve la actividad catabólica en los tejidos periféricos (Ungerfeld et al., 2024) y facilita la síntesis de globulinas de fase aguda en el hígado, promoviendo una respuesta de fase aguda (Arfuso et al., 2022b).

Si bien el estrés asociado a la esquila invernal ha sido estudiado ampliamente en ovejas, hasta donde puede conocerse, hay escasos estudios en carneros, siendo los mismo realizados en regiones tropicales (Panjono et al., 2024) o durante el verano (López-Armengol et al., 2017). Considerando que los machos y las hembras pueden presentar variaciones en su respuesta fisiológica al estrés, como lo demuestran estudios previos (Carcangiu et al., 2008), este trabajo tuvo como objetivo caracterizar cambios fisiológicos, hematológicos y bioquímicos agudos debidos a la esquila invernal específicamente sobre carneros mantenidos en condiciones subtropicales.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Producción ovina en Uruguay

La cría de ovinos es la segunda actividad más importante dentro del sector ganadero uruguayo, después de la cría de vacunos (MGAP, 2023). Uruguay es considerado un referente del sector lanero a nivel mundial, destacando por su calidad (SUL 2022). La lana corresponde al 1,3% de las exportaciones, y la carne ovina al 0,9% (MGAP, 2023). Uruguay se encuentra entre los 10 principales exportadores de lana a nivel mundial (SUL, 2022). La producción de lana en toneladas incrementó en un 0,8 % entre 2015 y 2023, pero la cantidad de toneladas exportadas de lana ovina en base sucia ha disminuido en un 36,7% entre 2015 y 2022, mientras que en miles de dólares ha disminuido en un 37,6% (MGAP, 2023). El principal destino de esta materia prima es China (82,5%) (Riani, 2023). La cantidad de toneladas de carne ovina exportada ha incrementado en un 70,4% entre 2015 y 2022, mientras que en miles de dólares ha incrementado en un 77,6% (MGAP, 2023). La carne ovina es exportada principalmente a China (49,5%), Brasil (21,8%) y otros países de Asia (17,2%) (MGAP, 2023).

La población ovina en el país ha disminuido en los últimos años, desde el 2015 al 2022 presentó una reducción de un 7,3% (MGAP, 2023), y del 5% entre el 2022 y 2023, siendo los carneros, ovejas de cría y capones, las categorías que registraron la mayor disminución (Riani, 2023). Ésta merma en la cantidad de ovinos comenzó en la década de los 90's en Uruguay, impulsada por la disminución de los precios internacionales de la lana (SUL, s.f.). El espacio dejado por este rubro fue ocupado por otros como la forestación, la agricultura sojera, la ganadería bovina de carne y leche (SUL, s.f.). Por otro lado, la caída en el stock ovino del último período pudo deberse en parte a los altos niveles de faena entre 2022 y principios de 2023 (Riani, 2023).

La producción ovina en el Uruguay se desarrolla principalmente en sistemas semi-extensivos y extensivos, con pastoreo en campos naturales, con una intervención humana mínima, donde los ovinos frecuentemente comparten el pastoreo con el ganado bovino (Freitas de Melo et al., 2018). El clima subtropical húmedo que presenta el país favorece la producción de ovinos (SUL, 2018), ya que permite a los animales permanecer bajo regímenes de pastoreo durante todo el año (Carámbula, 1991). La distribución de ovinos en Uruguay se concentra en el norte del país, principalmente, en los departamentos de Salto, Artigas y Paysandú, y en menor medida en el centro y este del país, con una perspectiva reducida en el resto del territorio nacional (MGAP, 2023). La producción ovina se desarrolla principalmente sobre suelos de basalto, donde la producción forrajera es baja (Berretta et al., 2014). Las principales razas en Uruguay son Corriedale (41%), Merino (26%) e Ideal (9%) (SUL, 2022).

A su vez, las ovejas de cría corresponden al 53,6% de majada nacional, mientras que los corderos al 27,7%, las borregas al 7,3%, los capones al 5,4%, las ovejas de descarte al 3,4% y los carneros al 2,3% (MGAP, 2023). Aunque los carneros corresponden al menor porcentaje de la majada nacional, tienen una importante función reproductiva, ya que pueden llegar a servir hasta 100 ovejas por monta natural (principal forma de reproducción empleada en el país) (SUL, 2018). Los

carneros tienen un rol importante en la mejora genética de su majada, representando un 70 a 80% de la misma (SUL, 2018).

2.2. Esquila

La esquila es un procedimiento necesario en el manejo productivo de los ovinos lanados, consistiendo en cosechar la lana producida luego de haber transcurrido un determinado período de crecimiento, que generalmente corresponde a un año (Ungerfeld & Freitas-de-Melo, 2021). El método de esquila más utilizado en Uruguay es el Tally-Hi, el que se realiza con el animal sentado, sin ningún tipo de ataduras, siendo más rápido y menos estresante que la esquila tradicional, en la que el animal se encuentra maneado (Ungerfeld & Freitas-de-Melo, 2021). La esquila en ovinos es realizada por primera vez entre los 8 y 12 meses de edad (Ungerfeld & Freitas-de-Melo, 2021). El momento del año en que se lleva a cabo depende de diversos factores, como son las condiciones meteorológicas, la categoría del animal, la disponibilidad de personal capacitado o maquinaria y el mercado lanero (Ungerfeld & Freitas-de-Melo, 2021). En general, en las ovejas, la esquila se efectuaba principalmente en los meses de primavera (octubre-noviembre), y más recientemente la época de esquila ha sido modificada para los meses de invierno, con la creciente utilización de la esquila preparto (Ungerfeld & Freitas-de-Melo, 2021).

En nuestro país, los carneros pueden ser esquilados tanto entre el invierno y la primavera, como a fines de verano y/o principio de otoño (Ungerfeld & Freitas-de-Melo, 2021). En Uruguay, la esquila de los carneros normalmente se realiza en conjunto con la de las ovejas, facilitando el manejo de los animales y reduciendo los costos del productor relacionados al pago de los esquiladores. Por ello, así como ha aumentado la esquila preparto en ovejas, también ha aumentado la esquila invernal de los carneros. La esquila, de acuerdo a la estación del año en que se realiza, potencialmente mejora los resultados productivos, económicos y reproductivos (Ungerfeld & Freitas-de-Melo, 2021). Aunque se recomienda realizar la esquila previa a la estación reproductiva, ya que mejora los resultados reproductivos (Hulet et al., 1956), esta práctica ha sido escasamente adoptada en nuestro país. Este manejo es realizado en ovinos de lana como objetivo productivo, pero también es necesario por razones higiénicas, sanitarias y para facilitar los procesos termorreguladores del animal en ambientes con temperatura elevada (Arfuso et al., 2022a). Si bien la esquila es necesaria desde el punto de vista productivo y del bienestar animal, aun así, es considerado un manejo estresante, compuesto por diferentes estresores, tema que se profundizará en el ítem 2.5.

2.3. Estrés y estresores

El estrés puede ser definido como un estado de desequilibrio en la homeostasis, siendo causado por un estresor, y produciendo un patrón de respuesta compensatoria con un objetivo primario adaptativo (Earley et al., 2010; Pacák & Palkovits, 2001; Sapolsky, 2004). La homeostasis es el conjunto de reacciones del

organismo que mantienen el balance de su condición interna estable (Cannon, 1929). Un estresor es cualquier fenómeno externo o interno que modifique el equilibrio del animal y que por tanto genere una respuesta de estrés (Ungerfeld et al., 2024). Según su etiología, los estresores se pueden clasificar en: 1) estresores físicos (calor, frío, ruido, dolor); 2) estresores psicológicos (ansiedad, miedo, frustración); 3) estresores sociales (aislamiento social en especies gregarias); y 4) estresores que afectan la homeostasis cardiovascular y metabólica (ejercicio, hipoglucemia, hemorragia) (Earley et al., 2010; Pacák & Palkovits, 2001).

Las respuestas de estrés son aquellas que buscan restablecer la homeostasis tras la acción de un estresor (Ungerfeld et al., 2024). La mayoría de las respuestas que se generan en una situación de estrés no son específicas para el estresor, sino que se desencadenan en respuesta a otras situaciones (Ungerfeld et al., 2024). Por otro lado, existe una gran variabilidad entre especies, razas e individuos, para sus mecanismos de adaptación y respuestas a los desafíos (Mormède et al., 2007). La capacidad de un animal para reaccionar frente a un estresor se relaciona con las condiciones en que habite y se encuentre (Ungerfeld et al., 2024). Un mismo animal podría reaccionar al mismo estresor de forma diferente en diferentes momentos del año, ambientes o contextos sociales (Ungerfeld et al., 2024). La respuesta de estrés también está relacionada con la edad, sexo, ritmos circadianos, estatus fisiológico y reproductivo de los animales, factores genéticos, de desarrollo y experiencia previa (Mormède et al., 2007; Ungerfeld et al., 2024).

La respuesta de estrés puede clasificarse de acuerdo con el tiempo que actúa el estresor, o también la duración de sus efectos (Ungerfeld et al., 2024). Esta respuesta puede ser aguda, es decir, tener efecto inmediato o a corto plazo (Pacák & Palkovits, 2001). La respuesta aguda genera cambios fisiológicos rápidos (de segundos a pocas horas) para restablecer el estado inicial, luego de que desaparece el estresor (Ungerfeld et al., 2024). En cambio, la respuesta crónica se prolonga en el tiempo durante varios días, semanas o incluso meses (Pacák & Palkovits, 2001). La duración de la respuesta al estresor puede prolongarse porque éste actúa durante un tiempo prolongado, o también porque sus efectos perduren, por más que su acción fuera instantánea (Ungerfeld et al., 2024). En este caso, el animal debe ajustar sus procesos fisiológicos durante varios días, aunque el estresor no siga actuando. Por ejemplo, luego de la esquila, el animal es sometido a un manejo y contexto estresante, además debe adaptar su estrategia termoregulatoria a la pérdida de lana, modificando su metabolismo a nuevas exigencias energéticas (Ungerfeld et al., 2024). La pérdida de la lana también genera estrés social, ya que los ovinos esquilados no reconocen inmediatamente a congéneres (los ovinos se identifican mutuamente por la cara, y la pérdida de lana modifica este aspecto) (Ungerfeld et al., 2024).

Las modificaciones fisiológicas causadas por estrés, dependiendo del contexto e intensidad, forman parte de la vida cotidiana del animal (Ungerfeld et al., 2024). Estos cambios fisiológicos que apuntan al restablecimiento de la homeostasis no necesariamente indican estados negativos, sino que reflejan la capacidad que tiene el animal para adaptarse a diferentes desafíos (Ungerfeld et al., 2024). La respuesta de estrés es considerada negativa cuando genera efectos deletéreos o se mantiene en el tiempo sin lograr la adaptación del individuo (Ungerfeld et al., 2024).

2.4. Respuesta de estrés aguda e indicadores de estrés

La respuesta de estrés aguda se desencadena por la exposición del animal a un estresor agudo (Sapolsky, 2004). Esta puede ser dividida en 3 fases: 1) el reconocimiento del estresor; 2) la respuesta biológica de estrés; y 3) las consecuencias biológicas de esta respuesta de estrés (Moberg & Mench, 2000). La respuesta de estrés es iniciada a nivel del SNC cuando se percibe una amenaza a la homeostasis, ya sea por cambios del ambiente externo, o interno del individuo (Collier & Gebremedhin, 2015). La percepción de la amenaza, real o no, es suficiente para desencadenar la respuesta de estrés (Ungerfeld et al., 2024). Esta información es procesada a nivel del tálamo, hipotálamo, sistema límbico y corteza cerebral, desde dónde se activan vías eferentes que efectúan diferentes respuestas fisiológicas (Collier et al., 2017). Estas respuestas comprenden la activación del SNS y el eje HHA (Ungerfeld et al., 2024). Por consiguiente, se inducen una serie de cambios fisiológicos y metabólicos que aumentan la disponibilidad de energía para que el animal pueda enfrentar el desequilibrio homeostático (Ferin, 2006). La activación a nivel del SNS y eje HHA sucede de manera simultánea, aunque la respuesta simpática presenta efectos más rápidos que la neuroendocrina (Earley et al., 2010). También se activan zonas del SNC como el hipocampo, la amígdala y el hipotálamo, que aumentan el estado de alerta, vigilancia y excitación, y se inhiben zonas cognitivas del córtex (Ungerfeld et al., 2024).

2.4.1. Respuesta de estrés aguda e indicadores de estrés a nivel del sistema nervioso simpático

El SNS está formado por axones preganglionares cortos y axones postganglionares largos (Klein, 2021). La neurona preganglionar se ve influenciada por axones del SNC, que a su vez reciben la información desde el hipotálamo, que se guía por información relacionada con procesos cognitivos y emocionales, provenientes de información sensorial tanto somática como visceral (Klein, 2021). Mientras que la mayoría de los axones preganglionares se conectan con neuronas postganglionares, otros van directamente a la médula adrenal (Klein, 2021). Los receptores adrenérgicos presentes en las sinapsis entre los tejidos diana periféricos y las neuronas postganglionares simpáticas pueden ser estimulados tanto por la liberación posganglionar de noradrenalina, como por la adrenalina y noradrenalina liberadas por la médula adrenal al torrente sanguíneo (Klein, 2021). El efecto culmina a nivel sináptico mediante la recaptación de la noradrenalina por la neurona presináptica, y a nivel de circulación sanguínea por la acción de la enzima catecol-O-metiltransferasa y en menor medida la enzima monoaminoxidasa, ambas se distribuyen ampliamente por todo el cuerpo (Klein, 2021).

El SNS responde rápidamente ante la percepción de un estresor, e inicia su respuesta en el tronco encefálico e hipotálamo (Ungerfeld et al., 2024). Consecuentemente se liberan catecolaminas (adrenalina y noradrenalina) en las sinapsis adrenérgicas y a la circulación sanguínea (Ungerfeld et al., 2024). A nivel sináptico, las catecolaminas se unen a los receptores postsinápticos α y β , estimulando o inhibiendo la actividad de los órganos blanco (Ungerfeld et al., 2024). A su vez, las células cromafines presentes en la médula adrenal de las glándulas

adrenales liberan adrenalina y noradrenalina al torrente sanguíneo, completando así la acción nerviosa directa, y actuando de manera más amplia y prolongada en los órganos blanco (Klein, 2021; Ungerfeld et al., 2024). La medición de las catecolaminas no es sencilla, dado que la respuesta simpática es muy rápida, y las catecolaminas duran muy poco tiempo en la circulación sanguínea (Ungerfeld et al., 2024).

Las catecolaminas provocan un incremento en la frecuencia cardíaca y respiratoria, y en la presión arterial, al unirse a los receptores adrenérgicos (Damián & Ungerfeld, 2013). Además generan un aumento del catabolismo lipídico, reflejado por una elevación en los ácidos grasos libres en sangre (Damián & Ungerfeld, 2013; Ungerfeld et al., 2024). Estas estimulan la gluconeogénesis y la glucogenólisis hepática, al incrementar el suministro de glicerol al hígado a través de la lipólisis (por lo que incrementa la glucemia) (Marik & Ballomo, 2013). Las catecolaminas despliegan el estado de vigilia, se produce midriasis y se inducen modificaciones en la distribución del flujo sanguíneo, al producirse vasoconstricción periférica (vasos mesentéricos y renales) y vasodilatación de los vasos de los músculos esqueléticos (Ungerfeld et al., 2024). La vasoconstricción periférica causa un incremento rápido de la temperatura central corporal, denominada “hipertermia inducida por estrés” (Herborn et al. 2015). También se modifica la temperatura superficial de la piel, produciéndose incrementos o disminuciones en diferentes regiones del cuerpo, acorde con la redistribución del flujo sanguíneo (Herborn et al. 2015). El área alrededor del borde posterior del párpado y la carúncula lagrimal poseen abundantes lechos capilares inervados por el SNS, experimentando así cambios de temperatura tras un evento estresante (Cannas et al., 2018). Las catecolaminas estimulan la contracción esplénica, causando un incremento de hematocrito (Arfuso et al., 2022b).

2.4.2. Respuesta de estrés aguda e indicadores de estrés a nivel del Eje Hipotálamo-hipófiso-adrenal

La percepción de un estresor también activa el eje HHA (Ungerfeld et al., 2024). La respuesta comienza cuando el núcleo paraventricular del hipotálamo (NPV) recibe la información desde otros núcleos del hipotálamo, el tronco encefálico (vinculado con entradas sensoriales provenientes de la periferia) y el sistema límbico (vinculado a los estados emocionales) (Ungerfeld et al., 2024). Estas entradas sensoriales al NPV determinan que la respuesta del eje HHA sea sensible tanto a factores internos como externos del animal (Ungerfeld et al., 2024). Se produce entonces la liberación de dos neuropéptidos en neuronas especializadas del NPV: CRH y VP (Ungerfeld et al., 2024). La CRH llega a las células corticotropas de la Adenohipófisis por el sistema porta-hipofisario, y las estimula a sintetizar y liberar ACTH (Mormède et al., 2007; Ungerfeld et al., 2024). La ACTH estimula a las células de la zona fascicular de la corteza adrenal a liberar glucocorticoides (principalmente el cortisol en ovinos) (Mormède et al., 2007; Ungerfeld et al., 2024). La VP modula al eje HHA, actuando sinérgicamente con la CRH, y promoviendo la liberación de ACTH, pero sólo la CRH es indispensable para promover la liberación de la ACTH (Zelena et al., 2003). La VP está vinculada a promover la máxima respuesta del eje HHA (Zelena et al.,

2003). Este eje es regulado por la retroalimentación negativa del cortisol a nivel hipotalámico (Klein, 2012). El incremento en la concentración de glucocorticoides inhibe la liberación de CRH y ACTH por parte del hipotálamo e hipófisis, regresando así a los valores basales, similares a los previos a la estimulación (Saplosky et al., 2000).

La concentración sérica de cortisol es un buen indicador de estrés agudo en animales domésticos (Möstl & Palme, 2002). Aunque se deben considerar tres aspectos de su secreción que pueden modificar la respuesta: 1) muchas especies secretan el cortisol de forma pulsátil, con un ritmo de secreción de aproximadamente 90 min (Mormède et al., 2007; Ungerfeld et al., 2024); 2) la secreción de cortisol sigue un patrón circadiano (oscilación biológica en 24 horas, que permite a los organismos anticipar y prepararse para los cambios en su entorno físico dados por los ciclos diarios externos) determinado por las horas luz y la especie, incrementando los niveles de glucocorticoides durante el periodo activo (especies diurnas, durante el día, y especies nocturnas, durante la noche), y presentando su pico al comienzo del periodo activo (especies diurnas presentan su pico de secreción de cortisol en las primeras horas de la mañana, al finalizar las horas de oscuridad) (Chung et al., 2011); 3) la secreción de cortisol puede variar con las estaciones, presentando una mayor concentración durante el invierno y verano (Ungerfeld et al., 2024). También hay fenómenos que no son considerados estresores, pero pueden aumentar la secreción de glucocorticoides, como la actividad física, la actividad sexual o la alimentación (Brandenberger et al., 1982; Colborn et al., 1991).

La mayoría de los órganos y sistemas fisiológicos son sensibles a los glucocorticoides (Saplosky et al., 2000). Quienes tienen un efecto de activación cardíaca, además aumentan la sensibilidad cardiovascular a las catecolaminas, al incrementar la capacidad de unión y afinidad de los receptores beta-adrenérgicos en las células de músculo liso arteriales, el acoplamiento receptor-proteína G y la síntesis de AMPc inducida por catecolaminas (Saplosky et al., 2000). Los glucocorticoides también prolongan la acción de las catecolaminas en la unión neuromuscular, al inhibir su recaptación (Saplosky et al., 2000). Bajo condiciones de estrés, también se produce una liberación de células de la médula ósea mediada por el cortisol (Arfuso et al., 2022b). La mayoría de las acciones de los glucocorticoides sobre las reacciones inmunitarias e inflamatorias son supresoras (Saplosky et al., 2000), pudiendo provocar linfopenia y neutrofilia (leucograma de estrés), generando mayor susceptibilidad a enfermedades (Griffin, 1989). También se observa generalmente eosinopenia causada por el incremento en cortisol (Griffin, 1989; Sanger et al., 2011).

El cortisol promueve la actividad catabólica (proteolítica y lipolítica) en los tejidos periféricos, pero tiene efectos anabólicos a nivel hepático al activar enzimas de la neoglucogénesis (incrementando la glucemia) (Ungerfeld et al., 2024). El cortisol reduce el ingreso de glucosa a las células de tejidos periféricos, involucrando en este proceso al glucagón, catecolaminas y algunas citoquinas proinflamatorias (Marik & Ballomo, 2013). Por otro lado, los procesos que no son considerados como esenciales para la supervivencia del animal son inhibidos, entre estos se encuentran la digestión, el crecimiento, y la reproducción (Saplosky, 2004).

Durante la respuesta de estrés, se da la respuesta de fase aguda, proceso que involucra cambios sistémicos y metabólicos que ocurren previo a una respuesta inmune (Petersen et al. 2004). Los glucocorticoides tienen un rol permisivo en la síntesis de globulinas de fase aguda, instigando una respuesta de fase aguda (Arfuso et al., 2022b). La respuesta de fase aguda es parte del sistema inmunitario inespecífico y comprende el aumento de las proteínas positivas de fase aguda (haptoglobina, la proteína reactiva C y el amiloide sérico A, entre otras) y la disminución de las proteínas negativas de fase aguda (como la albúmina) (Arfuso et al., 2022b; Petersen et al. 2004). En el caso de rumiantes la haptoglobina es la proteína positiva de fase aguda que incrementa en mayor proporción, y la albúmina, la de fase negativa (Ungerfeld et al., 2024). En resumen, la respuesta aguda de estrés genera cambios fisiológicos y metabólicos que pueden ser utilizados como biomarcadores para indicar la presencia y la magnitud de la respuesta de estrés en el animal.

2.5. Esquila, respuesta de estrés y termorregulación

Como se mencionó anteriormente, si bien la esquila es necesaria desde el punto de vista productivo, la misma desencadena una marcada respuesta de estrés en el animal (Sanger et al., 2011; Ungerfeld & Freitas-de-Melo, 2021). El estrés generado por la esquila tiene varios componentes, como son el encierro previo a la esquila, el aislamiento del grupo social durante la misma, el ruido de la máquina de esquilar, la manipulación por parte del esquilador y el dolor provocado por heridas que comúnmente ocurren durante el proceso (Sanger et al., 2011; Ungerfeld & Freitas-de-Melo, 2019; Ungerfeld & Freitas-de-Melo, 2021). Por otro lado, la remoción de lana también desencadena procesos termorreguladores, causados por la pérdida de una importante capa de aislamiento térmico (Carcangiu et al., 2008; Ungerfeld & Freitas-de-Melo, 2019; Ungerfeld & Freitas-de-Melo, 2021). Por ello, la esquila causa por lo tanto la activación del SNS y del eje HHA, con la liberación de sus hormonas efectoras (catecolaminas y glucocorticoides) (Arfuso et al., 2022a).

Estudios previos en ovejas encontraron un incremento en la concentración sérica de cortisol 5 y 60 minutos luego de la esquila, indicando la activación del eje HHA (Arfuso et al., 2022a, Arfuso et al., 2022b). En uno de estos estudios se correlacionó el incremento del cortisol con un incremento en las temperaturas rectal y superficial ocular (Arfuso et al., 2022a). El otro estudio, encontró también una disminución en la albúmina y un incremento en las globulinas α y $\beta 2$ a los 60 minutos luego de la esquila (Arfuso et al., 2022b). Se ha reportado que la esquila genera un incremento en la concentración de cortisol en capones, presentando un pico a los 10 minutos de la esquila (Hargreaves & Hutson, 1990a). Por otro lado, Mousa-Balabel & Salama (2010) observaron un incremento en las frecuencias respiratoria y cardíaca en ovejas luego de la esquila, pero no se registraron cambios a nivel de la temperatura rectal. Sin embargo, Sanger et al. (2011) registraron hipertermia inducida por estrés luego de la esquila de ovejas, asociada a un incremento en la concentración de cortisol.

La temperatura crítica inferior de los ovinos, temperatura ambiental por debajo de la que un animal comienza a perder calor hacia el medio ambiente y sufre estrés

térmico, varía dependiendo del largo de la lana (Piirsalu et al., 2020). Las ovejas presentan temperatura crítica inferior dependiente de la longitud de la lana, para 70 mm, 50 mm y 10 mm de largo presentan respectivamente temperaturas críticas inferiores de -18 °C, -5 °C y 25 °C (Piirsalu et al., 2020). Por ello, aunque la esquila sea un manejo estresante, se puede producir una disminución en la temperatura rectal (Ungerfeld & Freitas-de-Melo, 2021) y en la superficie de zonas deslanadas (Corrales-Hlinka et al., 2023). En este sentido, la termografía infrarroja de la región ocular puede representar un indicador adecuado de respuesta de estrés a la esquila, ya que es un área rica en vasos sanguíneos inervados por el SNS, principalmente el borde posterior del párpado y la carúncula lagrimal (Cannas et al., 2018), pudiendo evidenciar la "hipertermia inducida por estrés" (Herborn et al. 2015). De hecho, la temperatura superficial del canto medial, dónde se encuentra la carúncula lagrimal, presenta un incremento frente al estrés proporcional a la intensidad de los factores estresantes (Arfuso et al., 2022a).

Teniendo en cuenta toda esta información, se espera que la esquila invernal provoque una respuesta aguda de estrés en los carneros, que pueda ser evidenciada mediante biomarcadores de estrés a nivel fisiológico, hematológico y bioquímico. Como se indicó anteriormente, la esquila ha sido estudiada ampliamente. No obstante, la mayoría de los estudios se han centrado en ovejas y no carneros. Se ha demostrado que existen diferencias ligadas al sexo en las respuestas al estrés tanto en modelos animales como humanos, por ejemplo, la testosterona suprime la respuesta de cortisol inducida por la ACTH (Dawood et al., 2005).

3. HIPÓTESIS

La esquila invernal en carneros provoca una respuesta aguda de estrés, generando cambios en biomarcadores de estrés a nivel fisiológico, hematológico y bioquímico.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General:

Caracterizar los cambios fisiológicos, hematológicos y bioquímicos agudos debidos a la esquila invernal en carneros.

4.2. Objetivos específicos:

Determinar si la esquila invernal en carneros genera cambios indicadores de estrés agudo a nivel de:

- frecuencia cardíaca
- temperatura rectal y superficial del ojo
- hematocrito, hemoglobina, cantidad de leucocitos, concentración relativa de linfocitos, granulocitos absolutos, concentración relativa de granulocitos
- concentraciones séricas de cortisol y glucemia
- concentraciones séricas de proteínas totales, albúmina y globulinas

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Local de estudio, animales y manejo

El trabajo se realizó en la sede de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de la República durante el invierno (agosto). Todos los procedimientos fueron aprobados por la Comisión de Ética en el Uso de Animales (CEUA) de la Facultad de Veterinaria, Montevideo (Universidad de la República, Uruguay; protocolo 1134/20). Se utilizaron 22 carneros Corriedale, de 2 a 6 años de edad, con un peso promedio de $78,2 \pm 2,7$ kg; media $\pm$ SEM. Los carneros tuvieron diferentes orígenes: 12 pertenecían a la Facultad de Veterinaria, y 10 que fueron adquiridos de una cabaña comercial. Ambos grupos permanecieron separados por cercas metálicas, pero pudieron tener contacto visual, auditivo y olfativo. Se mantuvieron separados para evitar el estrés y la agresividad inducidos por la mezcla de carneros previamente desconocidos (Lacuesta & Ungerfeld, 2012). Una semana antes del experimento, todos los carneros fueron cepillados durante una semana de acuerdo a Chaumont et al. (2021) para reducir su temor a la presencia humana y facilitar su manejo y colecta de los datos.

Excepto el día de la esquila, los carneros fueron alojados durante el día, de 07:30 h a 18:15 h, en 4 corrales separados, a cielo abierto, de 6 m x 4 m cada uno, con áreas sombreadas y pasto natural (Figura 1). Lo anterior implicó que los carneros permanecieran continuamente bajo fotoperiodo natural, que para ese momento del año fue de 10:45 horas. El resto del tiempo los carneros fueron alojados en corrales interiores con piso de concreto, con una dimensión de 6 m²/carnero (80 m² en total).

Los carneros dispusieron de agua y bloques de sales minerales *ad libitum* y cada carnero recibió 750 g de fardo de alfalfa y 250 g de concentrado comercial dos veces al día, a las 07:15 h y a las 18:15 h, calculando la cantidad por animal de acuerdo a sus requerimientos nutricionales para mantenimiento (NRC, 2002). Todos los animales fueron esquilados por última vez un año antes del experimento, es decir, tenían previo a la esquila, al menos 12 meses de crecimiento de lana.



Figura 1. Foto ilustrando la distribución en los corrales de los carneros esquilados y no esquilados.

5.2. Diseño experimental y procedimiento de esquila

Los carneros fueron asignados según edad, peso corporal y origen a uno de dos grupos:

1. Grupo esquilado por el método Tally-Hi (n=11).
2. Grupo sin esquilar (grupo control; n=11).

La esquila fue realizada el 16 de agosto (mediados del invierno en el hemisferio sur). La esquila de todos los carneros fue realizada por un solo esquilador en una habitación cerrada ubicada a aproximadamente 10 metros del corral techado donde se alojaron inicialmente todos los carneros. Inmediatamente antes de cada esquila, dos manipuladores trasladaron un carnero de cada grupo a la sala de esquila. Los carneros del grupo control permanecieron en un corral a 5 m de distancia de la máquina de esquila, lo que permitió el contacto visual y auditivo de los carneros del grupo control con el proceso de esquila. La esquila de cada carnero duró aproximadamente 5 min y fue efectuada con un peine que dejó 7-8 mm de lana (peine Lister, cóncavo con 13 dientes). El procedimiento total de esquila duró aproximadamente 1 hora (entre las 08:00 y las 09:00 h). Luego de tomar los primeros registros y esquilar los carneros, los mismos circularon por un circuito delimitado por una malla hasta los mismos corrales donde eran alojados durante el día, donde se tomaron el resto de los registros. La toma de registros está detallada en el punto 5.2, y la circulación durante el experimento está ilustrada en la Figura 2. Los carneros circularon en pares de igual origen y similar tamaño, dónde un carnero del par pertenecía al grupo esquilado y el otro al no esquilado.

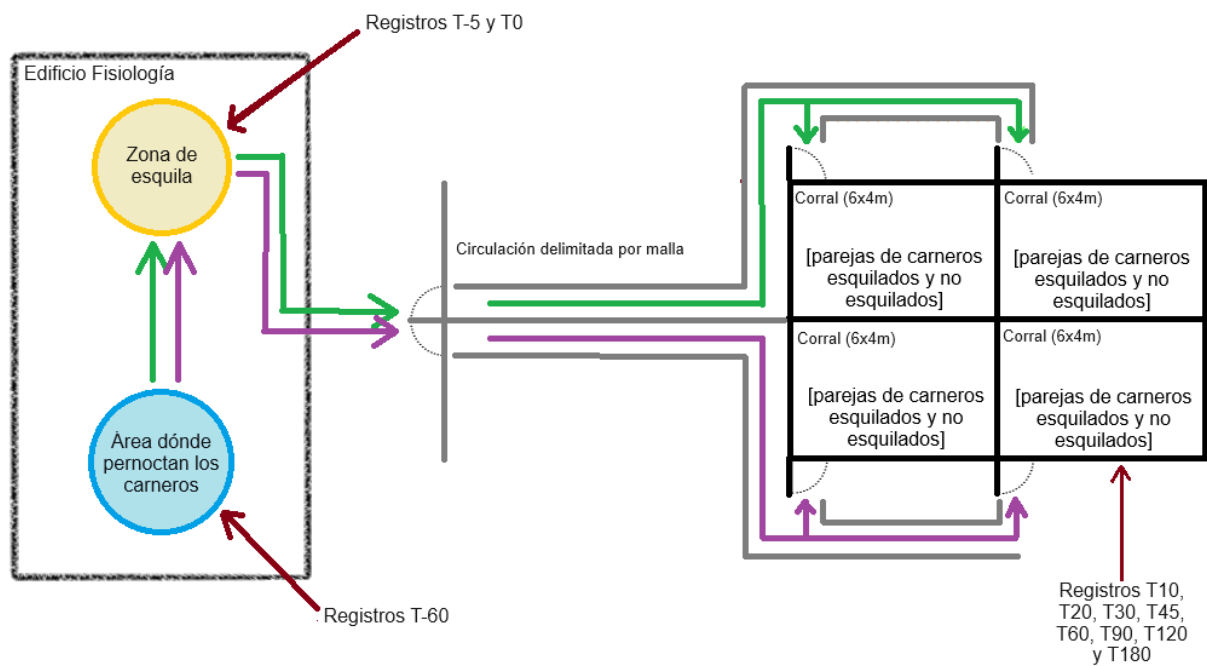


Figura 2. Esquemmatización de la circulación de los carneros durante el experimento de esquila. En rosado se muestra la circulación de los carneros que ya se encontraba en Facultad de Veterinaria de la Universidad de la República, mientras que en verde se visualiza la circulación del grupo de carneros adquirido. Los registros T corresponden a los diferentes momentos de toma de muestras, expresados en minutos, en relación al evento de esquila, -60 y -5 minutos previos a la esquila, inmediatamente luego de la esquila (0), y a los 10, 30, 45, 60, 90, 120 y 180 minutos luego de la esquila.

5.2. Registros

La frecuencia de determinación de las diferentes variables de respuesta en relación al momento de la esquila se esquematiza en la Figura 3.

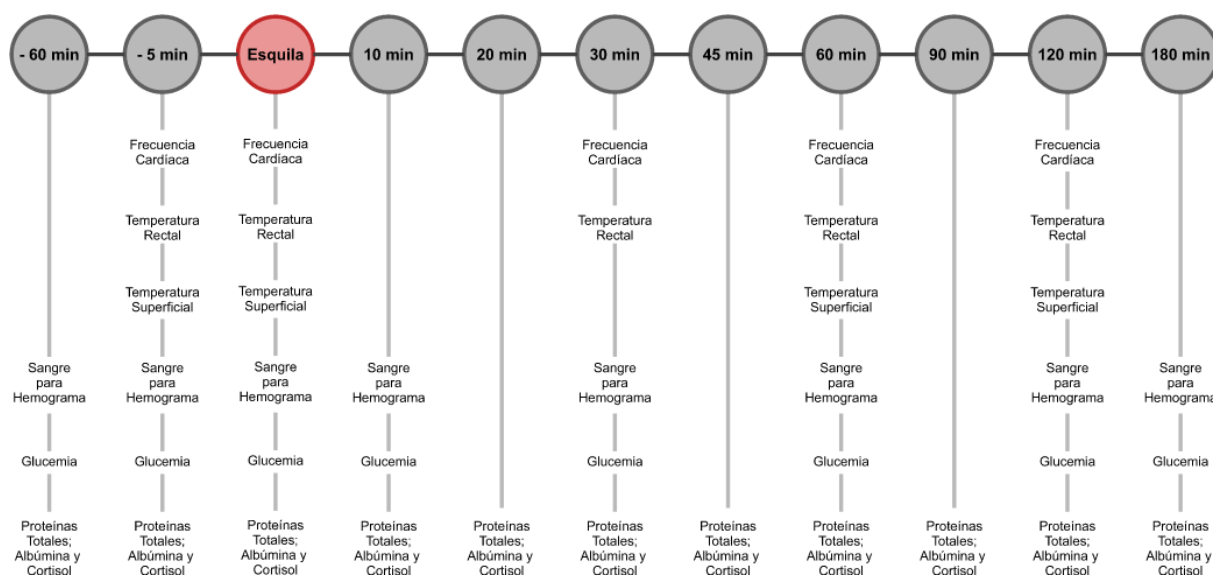


Figura 3. Línea de tiempo que representa la frecuencia de determinación de todas las variables, en relación al momento de la esquila.

5.2.1. Variables fisiológicas

Las variables fisiológicas determinadas fueron frecuencia cardíaca, temperatura rectal y temperatura superficial ocular. La frecuencia de medición de cada una se observa en la Figura 2. La frecuencia cardíaca se registró con el uso de un estetoscopio colocado a nivel del tercer a sexto espacio intercostal. Se registró el número de latidos en 15 segundos, calculando luego la frecuencia por minuto al multiplicar este valor por 4. La temperatura rectal se determinó con el uso de un termómetro digital introducido a través del ano hasta contactar con la mucosa del recto. La temperatura superficial ocular se determinó mediante termografía infrarroja (E95, FLIR, Estonia). Siempre la misma persona tomó las fotos a 1 m de distancia del animal. La cámara termográfica se calibró según la temperatura ambiente, la temperatura reflejada, humedad relativa y emisividad de 0,98 (Labeur y col. 2017). La región ocular se midió en el área delimitada a partir de las imágenes infrarrojas utilizando la herramienta de función de medición de elipse con el software de análisis de imágenes Flir (FLIR Tools) según Pinto-Santini et al. (2022). El software de análisis de imagen Flir® calculó las temperaturas mínimas, promedio y máximas. La región ocular delimitada para la medición de la temperatura superficial ocular se ilustra en la Figura 4.

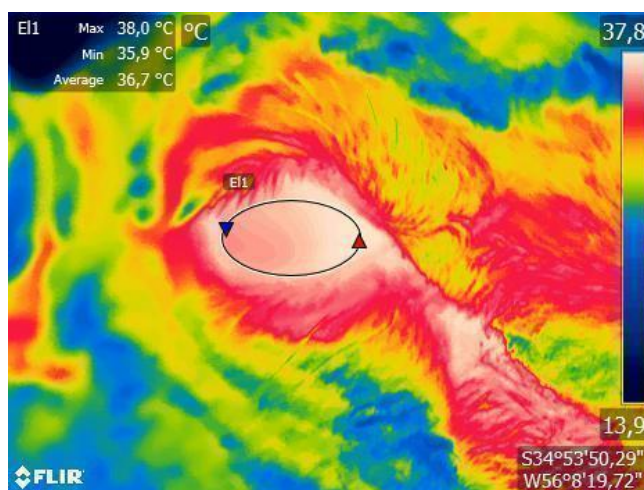


Figura 4. Imagen ilustrando la región ocular delimitada para la medición de la temperatura superficial ocular en base a termografía.

5.2.2. Muestreo y procesamiento sanguíneo

Las muestras de sangre para la determinación de indicadores hematológicos y bioquímicos se obtuvieron mediante venopunción de la vena yugular. La frecuencia de extracción es la que se detalla en la Figura 2. En cada extracción se colectaron aproximadamente 10 mL de sangre. Para el análisis de parámetros hematológicos, la sangre se depositó en tubos con EDTA; para la glucemia, en tubos con heparina e iodoacetato; y para la determinación de proteínas séricas totales, albúmina y cortisol, en tubos de vidrio sin anticoagulante. Inmediatamente después de la extracción, todas las muestras, excepto las destinadas a hematología, se centrifugaron a 1500 g durante 20 minutos para obtener suero o plasma. Posteriormente, el suero o plasma se almacenó en tubos Eppendorf debidamente rotulados con el número identificador del animal, la fecha y el tiempo con respecto a la esquila. Los tubos Eppendorf se conservaron a -20 °C en bolsas plásticas identificadas hasta su análisis.

5.2.3. Indicadores hematológicos y bioquímicos

La frecuencia de medición de los indicadores hematológicos y bioquímicos se presenta en la Figura 2. Se determinó el hematocrito, la hemoglobina, la cantidad de leucocitos, la concentración relativa de linfocitos, los granulocitos absolutos y la concentración relativa de granulocitos y los mismos fueron procesados el mismo día, utilizando un equipo automatizado (HumanCount 30/60TS; Human, Wiesbaden, Germany).

Las variables bioquímicas determinadas fueron glucemia, concentraciones séricas de proteínas totales, albúmina, globulinas, y cortisol. La frecuencia de medición de cada una se observa en la Figura 2. Los análisis de glucemia, proteínas totales y albúmina se realizaron en el Laboratorio de Fisiología (Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Uruguay) con un analizador automático (Wiener Lab,

Rosario, Argentina), utilizando kits comerciales (Bio-Systems, Barcelona, España). Las concentraciones de globulina sérica se estimaron restando la concentración de albúmina sérica de la concentración de proteína total en suero. La determinación de la concentración sérica de cortisol se realizó en el Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo Animal (Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Uruguay) por radioinmunoanálisis, utilizando un kit en fase sólida (Cisbio Bioassays, Codolet, Francia). Los límites de detección 2,64 y 2,88 ng/mL y los coeficientes de variación intraensayo e interensayo estuvieron ambos por debajo del 15 %.

5.2.4. Registro ambiental

La temperatura ambiente y la humedad relativa (HR) se registraron durante el día de la esquila, con un registrador de datos resistente a la intemperie (HOBO MX2301A, Onset Computer Corporation, Bourne, EE. UU.). El registrador de datos se colocó en la parte superior de un panel (100 cm de alto) en medio de los corrales al aire libre. La temperatura ambiental presentó un promedio de 13.2°C. En la Tabla 1 se indican los registros de temperatura según la hora del día.

Tabla 1. Registros de temperatura ambiental en el período de registros de la temperatura rectal y de la temperatura superficial ocular según la hora del día.

Hora	Temperatura ambiental en °C
07:30	8,9
08:30	9,6
09:30	11,1
10:30	11,8
11:30	13,5
12:30	15,7
13:30	17,0
14:30	16,3
15:30	16,5
16:30	13,4
17:30	12,6
18:30	12,0

5.2.5. Análisis estadístico

La normalidad de cada variable fue testeada con la prueba de Shapiro–Wilk. Todas las variables se analizaron bajo un diseño completamente al azar con modelo mixto (proc mixto con opción repetida; SAS, Edición Universitaria). El modelo incluyó el grupo experimental (carneros esquilados vs no esquilados), el tiempo, así como la interacción entre el grupo y el tiempo como efectos principales. También se consideró al animal como efecto aleatorio. Los datos se consideraron diferentes con $P \leq 0,05$ y con tendencia a ser diferentes con $P \leq 0,10$.

6. RESULTADOS

6.1. Variables fisiológicas

Los principales efectos del tratamiento, de tiempo y su interacción sobre las diferentes variables fisiológicas están presentados en la Tabla 2.

Tabla 2. Promedios ajustados por mínimos cuadrados, con sus errores correspondientes, principales efectos del tratamiento, tiempo y la interacción entre el tratamiento y tiempo sobre frecuencia cardíaca, temperatura rectal y temperatura superficial ocular.

Variable	Promedios ajustados por mínimos cuadrados		P		
	Esquilados	No esquilados	Tratamiento	Tiempo	Interacción entre el tiempo y el tratamiento
Frecuencia cardíaca (latidos/min)	76,2 ± 2,9	70,0 ± 3,0	ns	< 0,0001	< 0,0001
Temperatura rectal (°C)	39,1 ± 0,1	39,2 ± 0,1	ns	< 0,0001	0,08
Temperatura superficial ocular (°C)	38,3 ± 0,08	38,5 ± 0,08	ns	< 0,0001	0,06

ns: no significativo

6.1.1. Frecuencia cardíaca

Las variaciones en la frecuencia cardíaca están representadas en la Figura 5. No hubo efecto del tratamiento en la respuesta aguda a la esquila invernal sobre la frecuencia cardíaca (Figura 5). Sin embargo, se observó una interacción entre el tratamiento y el tiempo ($P < 0,0001$): la frecuencia cardíaca fue mayor en los carneros esquilados que en los no esquilados inmediatamente luego de la esquila (0 minutos) ($P < 0,0001$). La frecuencia cardíaca varió con el tiempo ($P < 0,0001$): incrementó inmediatamente luego de la esquila (0 minutos) ($P < 0,0001$), bajando a los 30 minutos luego de la esquila ($P < 0,0001$) y volviendo a valores iniciales 60 minutos luego de la esquila.

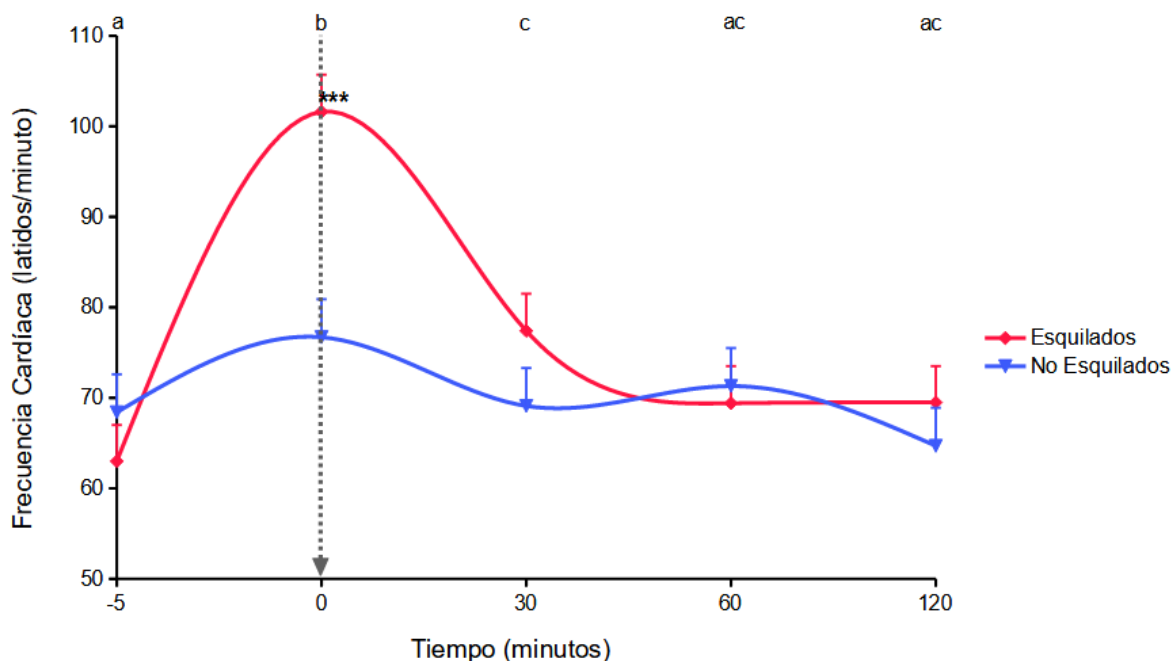


Figura 5. Frecuencia cardíaca en carneros esquilados (-♦-) o no esquilados (-▼-). La flecha indica el momento de la esquila invernal. Diferentes letras indican diferencias en el tiempo ($P < 0,0001$). Asteriscos indican diferencias entre grupos en ese momento *** $P < 0,0001$.

6.1.2. Temperatura rectal

Las variaciones en la temperatura rectal están representadas en la Figura 6. No hubo efecto de tratamiento en la respuesta aguda a la esquila invernal sobre la temperatura rectal (Figura 6). Hubo una tendencia en la interacción entre el tratamiento y el tiempo ($P=0,08$). La temperatura rectal varió con el tiempo ($P<0,0001$): incrementó inmediatamente luego de la esquila (0 minutos) ($P<0,0001$), disminuyó a los 30 minutos luego de la esquila ($P=0,04$), retornando a los 60 minutos a valores similares a los previos a la esquila ($P=0,0003$).

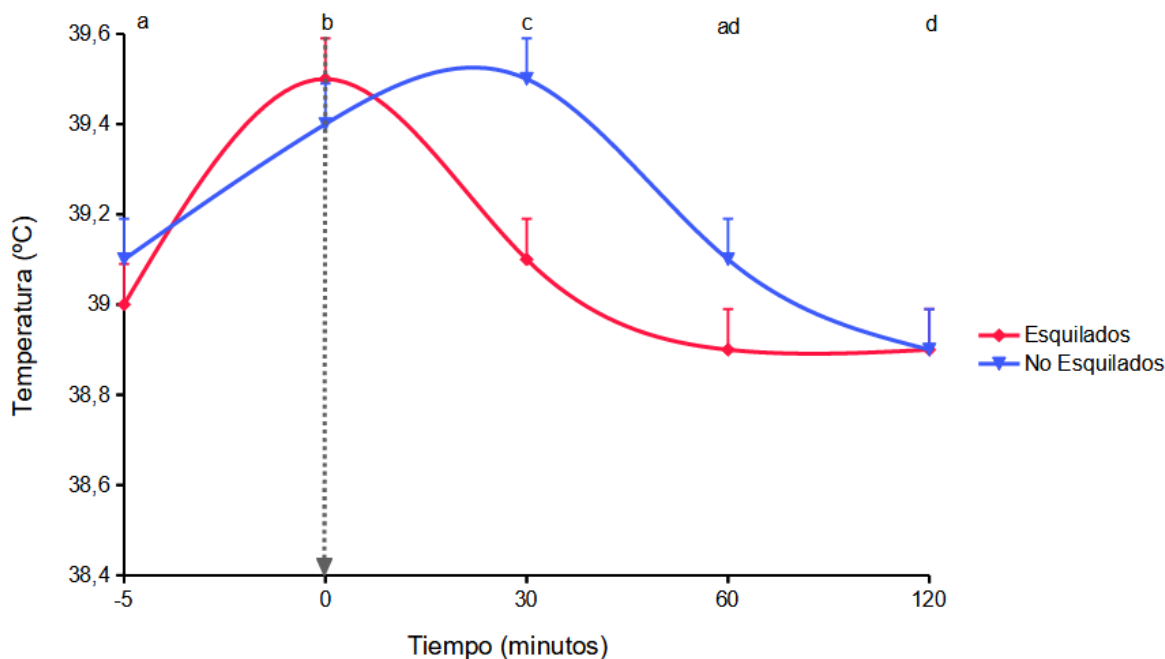


Figura 6. Temperatura rectal en carneros esquilados (-♦-) o no esquilados (-▼-).

La flecha indica el momento de la esquila invernal. Diferentes letras indican diferencias en el tiempo ($P<0,0001$).

6.1.3. Temperatura superficial ocular

La temperatura superficial ocular está representada en la Figura 7. No hubo efecto de tratamiento en la respuesta aguda a la esquila invernal sobre la temperatura superficial ocular. Hubo una tendencia a la interacción entre el tratamiento y el tiempo ($P=0,065$). La temperatura superficial ocular varió con el tiempo ($P<0,0001$): incrementó inmediatamente luego de la esquila (0 minutos) ($P=0,004$) y disminuyó a valores inferiores a la inicial a los 60 minutos luego de la esquila ($P<0,0001$).

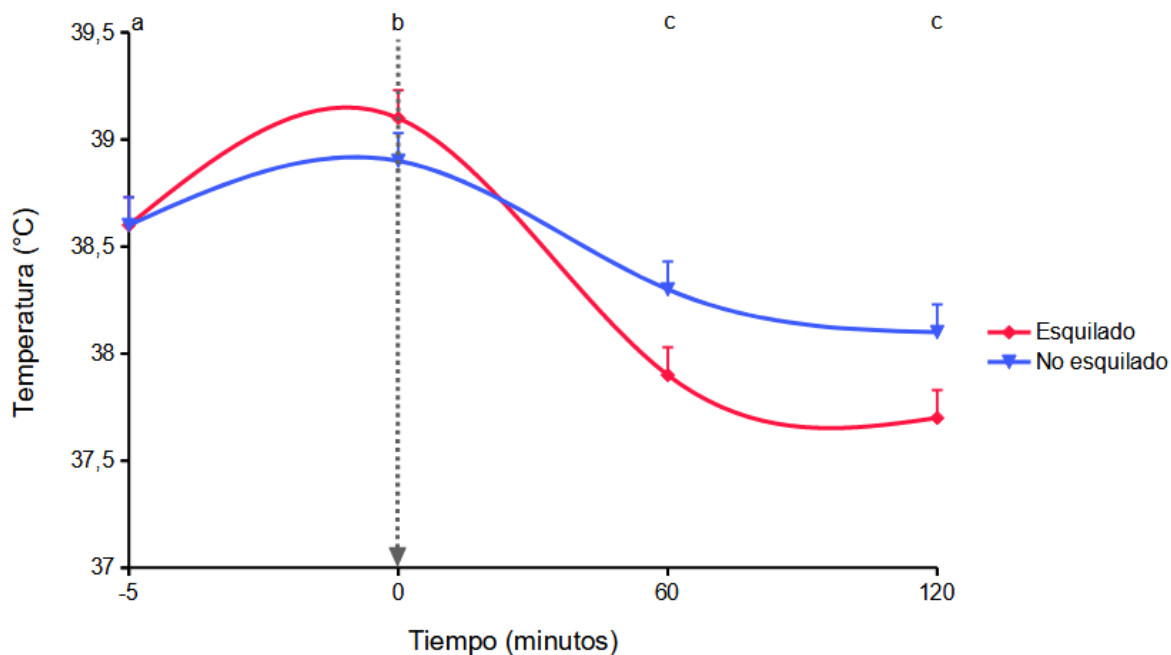


Figura 7. Temperatura superficial ocular en carneros esquilados (-♦-) o no esquilados (-▼-).

La flecha indica el momento de la esquila invernal. Diferentes letras indican diferencias en el tiempo ($P<0,0001$).

6.2. Variables hematológicas

Los principales efectos del tratamiento, tiempo y su interacción sobre las diferentes variables hematológicas están presentados en la Tabla 3.

Tabla 3. Promedios ajustados por mínimos cuadrados, con sus errores correspondientes, principales efectos del tratamiento, tiempo y la interacción entre el tratamiento y tiempo sobre hematocrito, hemoglobina, concentración de leucocitos, concentración relativa de linfocitos, granulocitos absolutos y concentración relativa de granulocitos.

Variable	Promedios ajustados por mínimos cuadrados		P		
	Esquilados	No esquilados	Tratamiento	Tiempo	Interacción entre tiempo y tratamiento
Hematocrito (%)	34,05 ± 0,5	33,75 ± 0,5	ns	< 0,0001	0,001
Hemoglobina (g/dL)	10,09 ± 0,16	9,89 ± 0,16	ns	< 0,0001	0,001
Concentración de Leucocitos (10 ⁹ /L)	8,94 ± 0,5	7,65 ± 0,5	0,08	ns	ns
Concentración relativa de linfocitos (%)	52,95 ± 2,03	53,88 ± 2,01	ns	< 0,0001	ns
Granulocitos absolutos (10 ⁹ /L)	3,35 ± 0,23	2,95 ± 0,23	ns	0,0002	ns
Concentración relativa de granulocitos (%)	40,39 ± 1,87	39,71 ± 1,86	ns	< 0,0001	ns

ns: no significativo

6.2.1. Hematocrito

El hematocrito está representado en la Figura 8. No hubo efecto de tratamiento en la respuesta aguda a la esquila invernal sobre el hematocrito. Hubo una interacción entre el tratamiento y tiempo ($P=0,001$): el hematocrito fue mayor en los carneros esquilados a diferencia de los no esquilados inmediatamente luego de la esquila (0 minutos) y 180 minutos después de la esquila ($P=0,05$; $P=0,03$ respectivamente). El hematocrito varió con el tiempo ($P<0,0001$): incrementó inmediatamente luego de la esquila (0 minutos) ($P<0,0001$), y retomó a los 10 minutos luego de la esquila valores basales hasta el final del estudio.

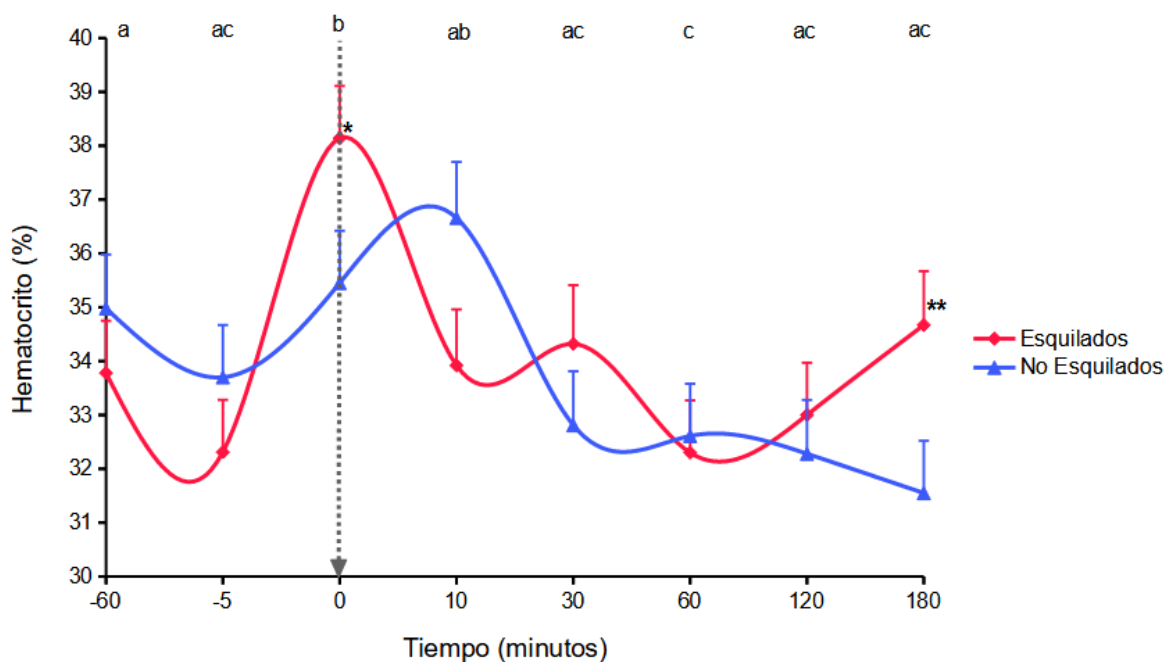


Figura 8. Hematocrito en carneros esquilados (-♦-) o no esquilados (-▼-).

La flecha indica el momento de la esquila invernal. Diferentes letras indican diferencias en el tiempo ($P<0,0001$).

Asteriscos indican diferencias entre grupos en ese momento * $P=0,05$; ** $P=0,03$.

6.2.2. Hemoglobina

La hemoglobina está representada en la Figura 9. No hubo efecto de tratamiento en la respuesta aguda a la esquila invernal sobre la hemoglobina. Hubo una interacción entre el tratamiento y tiempo ($P=0,001$): la hemoglobina fue mayor en los carneros esquilados inmediatamente luego de la esquila (0 minutos) y 180 minutos que en los no esquilados ($P=0,02$; $P=0,04$ respectivamente). La hemoglobina varió con el tiempo ($P<0,0001$): disminuyó a los -5 minutos previos a la esquila ($P=0,007$), incrementó inmediatamente luego de la esquila (0 minutos) ($P<0,0001$), y retomó a los 10 minutos luego de la esquila valores basales ($P<0,0001$).

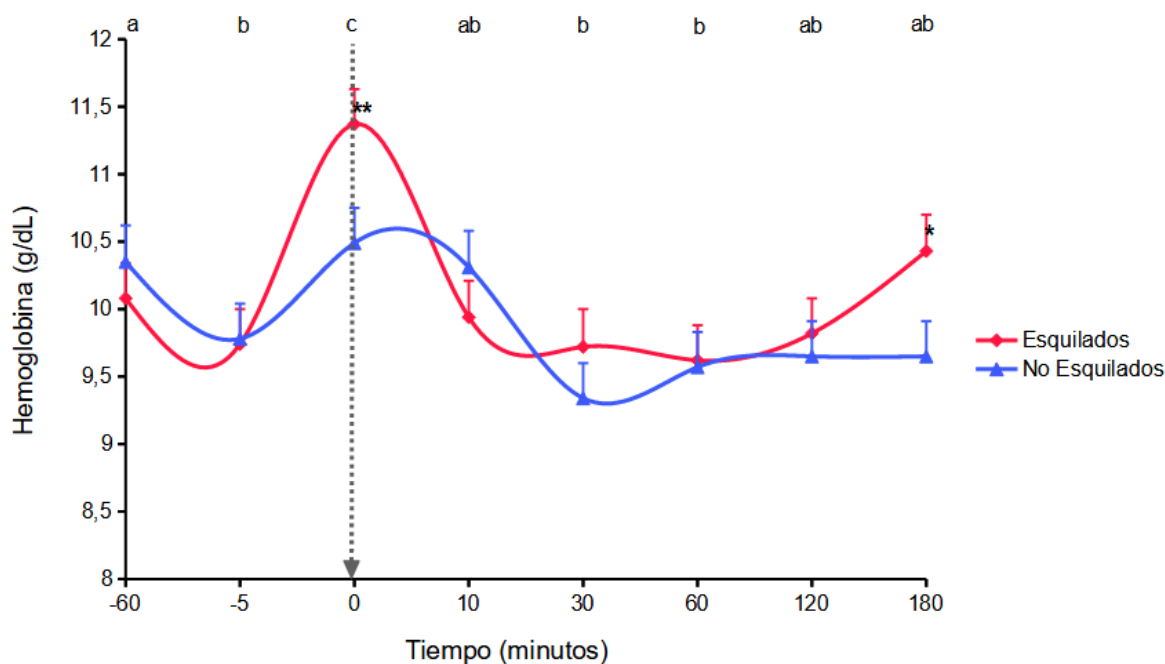


Figura 9. Hemoglobina en carneros esquilados (-♦-) o no esquilados (-▼-).

La flecha indica el momento de la esquila invernal. Diferentes letras indican diferencias en el tiempo ($P<0,0001$).

Asteriscos indican diferencias entre grupos en ese momento * $P=0,04$; ** $P=0,02$

6.2.3. Concentración de las células blancas (leucocitos)

La concentración de leucocitos está representada en la Figura 10. Hubo tendencia a efecto de tratamiento en la respuesta aguda a la esquila invernal sobre la concentración de leucocitos ($P=0,08$). No hubo interacción entre el tratamiento y tiempo en la respuesta aguda a la esquila invernal sobre la concentración de leucocitos. La concentración de leucocitos no varió con el tiempo.

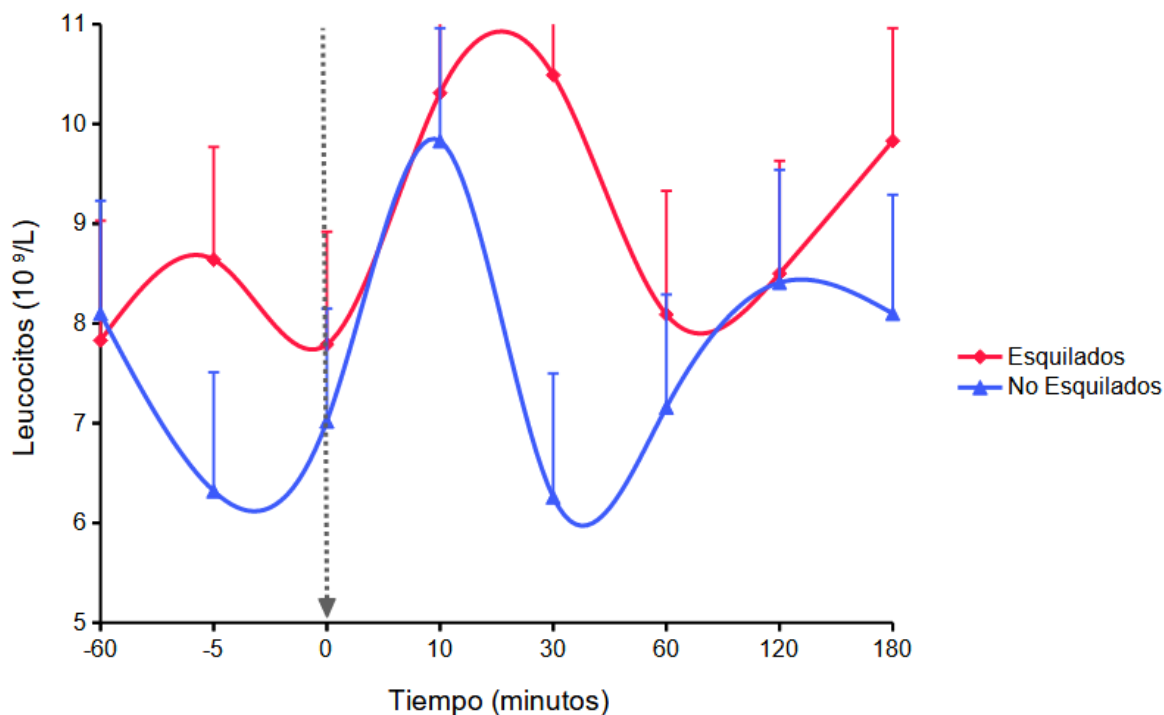


Figura 10. Concentración de Leucocitos en carneros esquilados (-♦-) o no esquilados (-▼-).

La flecha indica el momento de la esquila invernal.

La concentración relativa de linfocitos está representada en la Figura 12. No hubo efecto de tratamiento en la respuesta aguda a la esquila invernal sobre la concentración relativa de linfocitos. No hubo interacción entre el tratamiento y el tiempo en la respuesta aguda a la esquila invernal sobre la concentración relativa de linfocitos. La concentración relativa de linfocitos varió con el tiempo ($P<0,0001$): disminuyó a los 10 minutos luego de la esquila ($P=0,006$), , y se mantuvo en menor concentración que las muestras basales hasta 180 minutos después de la esquila ($P=0,009$).

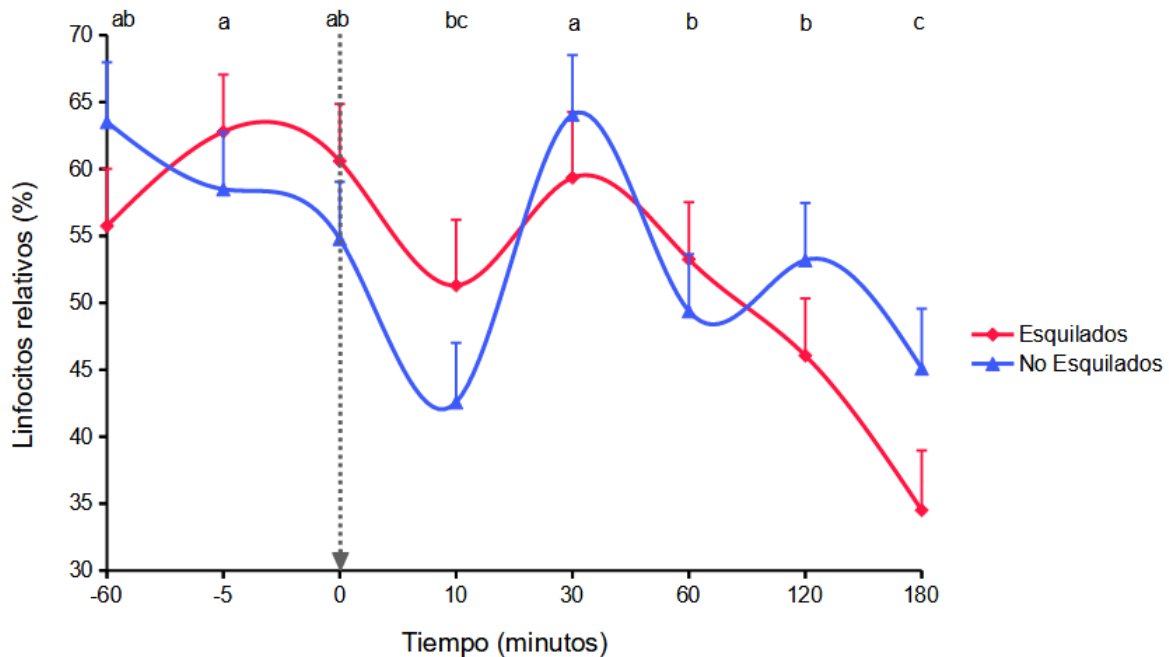


Figura 12. Concentración de linfocitos en carneros esquilados (-♦-) o no esquilados (-▼-).

La flecha indica el momento de la esquila invernal. Diferentes letras indican diferencias en el tiempo ($P<0,0001$).

Los granulocitos absolutos están representados en la Figura 13. No hubo efecto de tratamiento en la respuesta aguda a la esquila invernal sobre los granulocitos absolutos. No hubo interacción entre el tratamiento y tiempo en la respuesta aguda a la esquila invernal sobre los granulocitos absolutos. Los granulocitos absolutos variaron con el tiempo ($P=0,0002$): incrementaron a los 60 minutos ($P=0,009$) y se mantuvieron hasta el final del estudio.

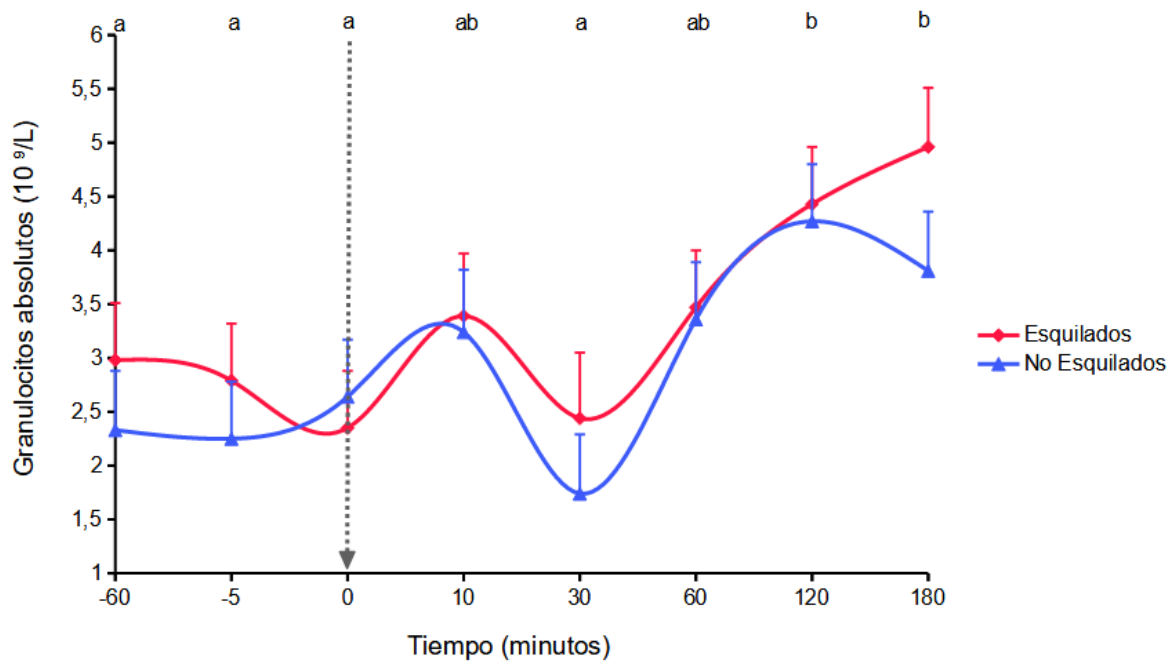


Figura 13. Granulocitos absolutos en carneros esquilados (-♦-) o no esquilados (-▼-).

La flecha indica el momento de la esquila invernal. Diferentes letras indican diferencias en el tiempo ($P=0,0002$).

La concentración relativa de granulocitos está representada en la Figura 14. No hubo efecto de tratamiento en la respuesta aguda a la esquila invernal sobre la concentración relativa de granulocitos. No hubo interacción entre el tratamiento y tiempo en la respuesta aguda a la esquila invernal sobre la concentración relativa de granulocitos. La concentración relativa de granulocitos varió con el tiempo ($P<0,0001$): incrementó a los 10 minutos luego a la esquila ($P=0,0033$), retomó valores basales a los 30 minutos ($P= 0,0006$), volvió a incrementar a los 60 minutos ($P=0,0029$), y se mantuvo en concentraciones altas hasta el final del estudio.

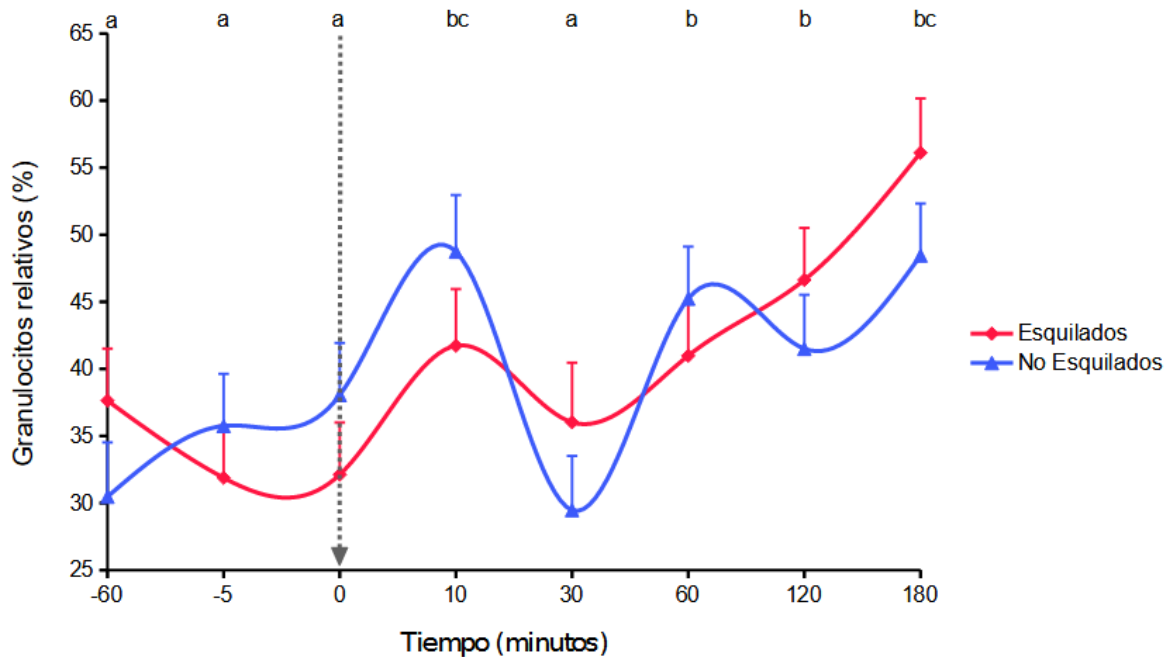


Figura 14. Concentración relativa de granulocitos en carneros esquilados (-♦-) o no esquilados (-▼-).

La flecha indica el momento de la esquila invernal. Diferentes letras indican diferencias en el tiempo ($P<0,0001$).

6.3. Variables bioquímicas y concentración de cortisol

Los principales efectos del tratamiento (esquilados contra no esquilados), tiempo y su interacción sobre las diferentes variables metabólicas y concentración de cortisol están presentados en la Tabla 4. Excepto las proteínas totales y las globulinas, todas las variables variaron con el tiempo.

Tabla 4. Promedios ajustados por mínimos cuadrados, con sus errores correspondientes, principales efectos del tratamiento, tiempo y la interacción entre el tratamiento y tiempo sobre glucemia, proteínas totales, albúmina y cortisol.

Variable	Promedios ajustados por mínimos cuadrados		P		
	Esquilados	No esquilados	Tratamiento	Tiempo	Interacción entre tiempo y tratamiento
Glucemia (mg/dL)	74,2 ± 1,6	61,5 ± 1,6	< 0,0001	0,02	ns
Proteínas totales (g/dL)	7,0 ± 0,2	6,8 ± 0,2	ns	0,007	ns
Albúmina (g/dL)	4,1 ± 0,2	3,8 ± 0,2	ns	0,001	ns
Globulinas (g/dL)	2,9 ± 0,2	2,8 ± 0,2	ns	ns	ns
Cortisol (mmol/L)	26,9 ± 2,1	14,2 ± 2,1	0,0004	< 0,0001	< 0,0001

ns: no significativo

6.3.1. Glucemia

La glucemia está representada en la Figura 15. Hubo efecto de tratamiento en la respuesta aguda a la esquila invernal sobre la glucemia, siendo mayor en los carneros esquilados que en los no esquilados ($P < 0,0001$). No hubo interacción entre el tratamiento y tiempo en la respuesta aguda a la esquila invernal sobre la glucemia. La glucemia varió con el tiempo ($P = 0,02$): incrementó inmediatamente luego de la esquila (0 minutos) ($P = 0,007$) y se mantuvo alta hasta el final del estudio.

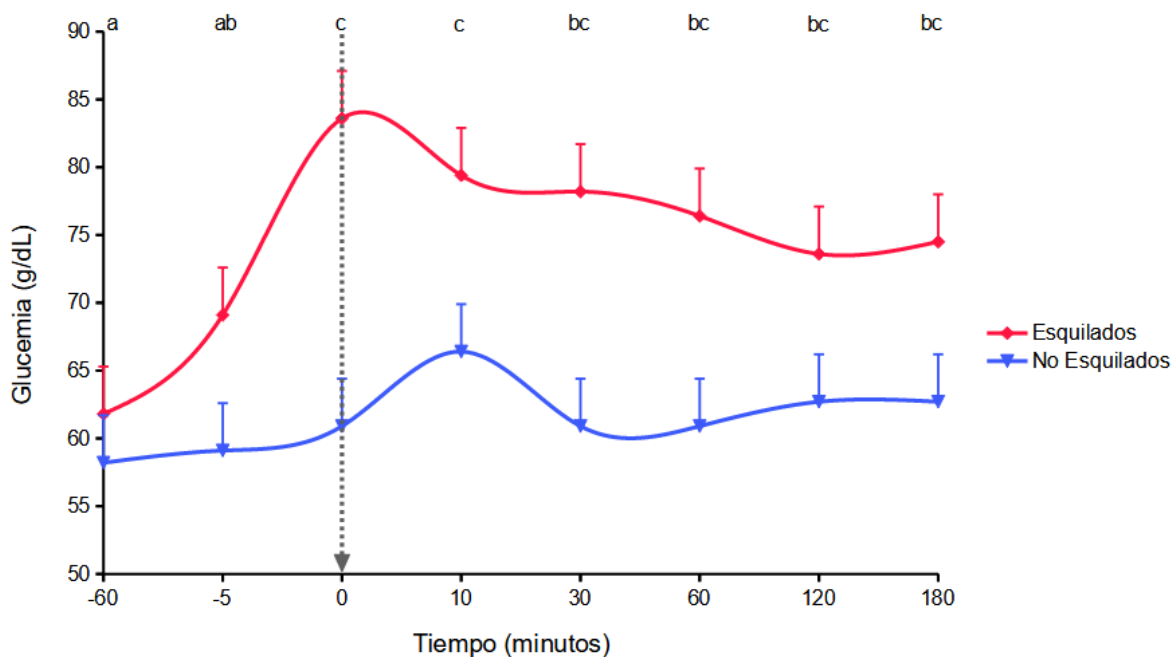


Figura 15. Glucemia en carneros esquilados (-♦-) o no esquilados (-▼-).

La flecha indica el momento de la esquila invernal. Diferentes letras indican diferencias en el tiempo. ($P = 0,02$).

6.3.2. Proteínas totales

Las proteínas totales están representadas en la Figura 16. No hubo efecto de tratamiento en la respuesta aguda a la esquila invernal sobre las proteínas totales. No hubo interacción entre el tratamiento y el tiempo en la respuesta aguda a la esquila invernal sobre las proteínas totales. Las proteínas totales variaron con el tiempo ($P=0,007$): incrementaron -5 minutos previos a la esquila ($P=0,0002$), volviendo a los 20 minutos a valores basales previos a la esquila.

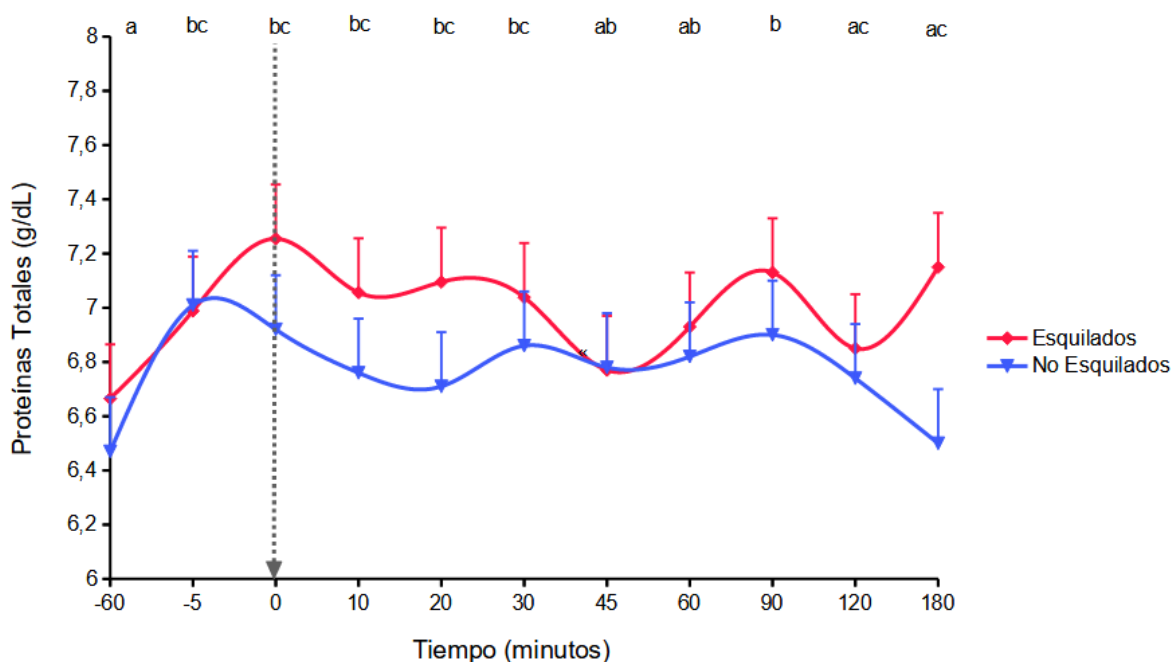


Figura 16. Proteínas totales en carneros esquilados (-♦-) o no esquilados (-▼-).

La flecha indica el momento de la esquila invernal. Diferentes letras indican diferencias en el tiempo. ($P=0,007$).

6.3.3. Albúmina

La albúmina está representada en la Figura 17. No hubo efecto de tratamiento en la respuesta aguda a la esquila invernal sobre la albúmina. No hubo interacción entre el tratamiento y el tiempo en la respuesta aguda a la esquila invernal sobre la albúmina. La albúmina varió con el tiempo ($P=0,001$): incrementó 5 minutos previos a la esquila ($P=0,0006$), volviendo a los 30 minutos a valores basales.

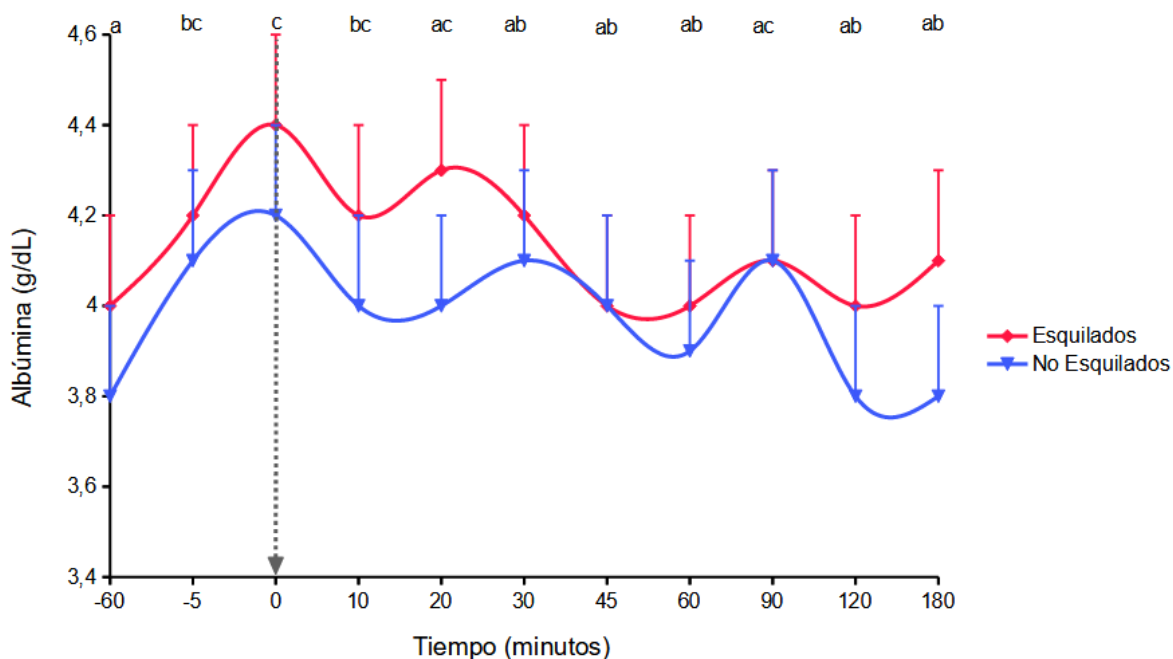


Figura 17. Albúmina en carneros esquilados (-♦-) o no esquilados (-▼-).

La flecha indica el momento de la esquila invernal. Diferentes letras indican diferencias en el tiempo. ($P=0,0012$).

6.3.4. Globulinas

Las globulinas están representadas en la Figura 18. No hubo efecto de tratamiento en la respuesta aguda a la esquila invernal sobre las globulinas. No hubo interacción entre el tratamiento y tiempo en la respuesta aguda a la esquila invernal sobre las globulinas. Las globulinas no variaron con el tiempo en la respuesta aguda a la esquila invernal.

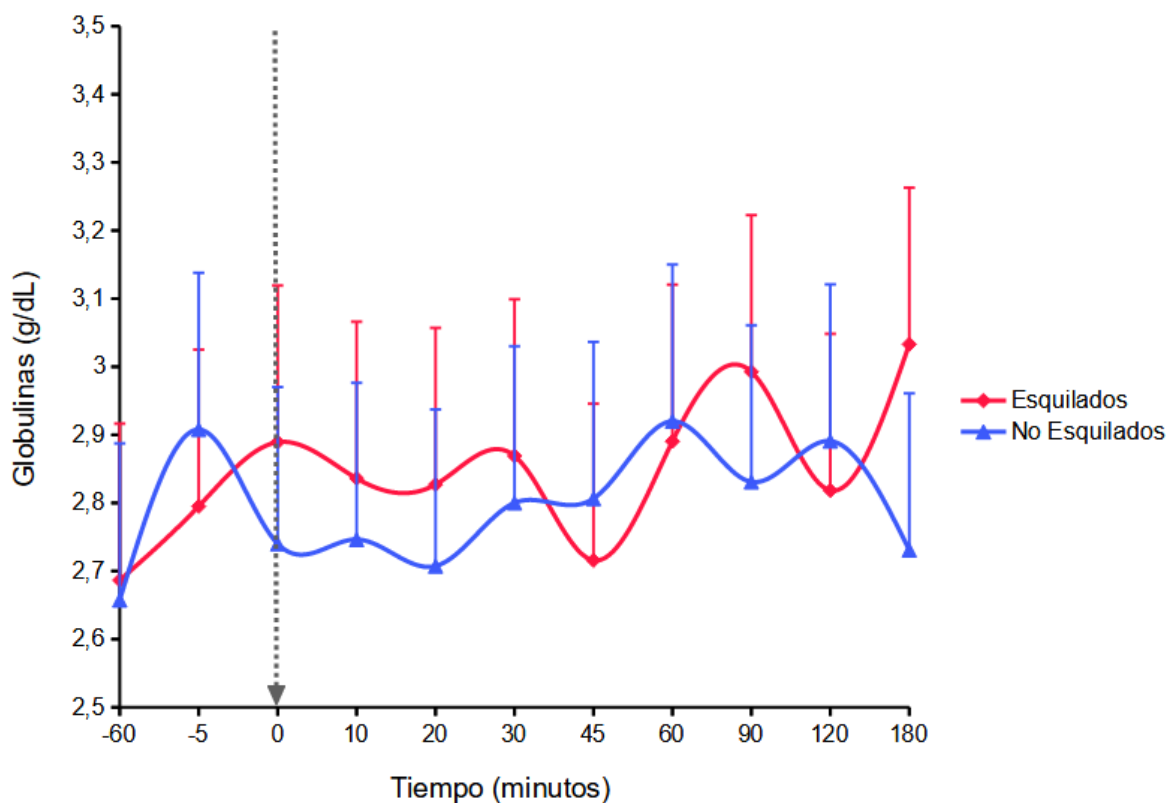


Figura 18. Globulinas en carneros esquilados (-♦-) o no esquilados (-▼-). La flecha indica el momento de la esquila invernal.

6.3.5. Cortisol

El cortisol está representado en la Figura 19. Hubo efecto de tratamiento en la respuesta aguda a la esquila invernal sobre el cortisol: los carneros esquilados presentaron mayores concentraciones de cortisol que los no esquilados ($P=0,0004$). Hubo interacción entre el tratamiento y tiempo ($P<0,0001$): la concentración de cortisol fue mayor en los carneros esquilados que en los no esquilados inmediatamente luego de la esquila (0 minutos), 10, 20 y 30 minutos luego de la esquila ($P<0,0001$ para las tres primeras comparaciones y $P=0,0072$ para la última, respectivamente). El cortisol varió con el tiempo ($P<0,0001$): se incrementó inmediatamente luego de la esquila (0 minutos) ($P<0,0001$), volviendo a los valores similares a los previos a la esquila a los 45 minutos.

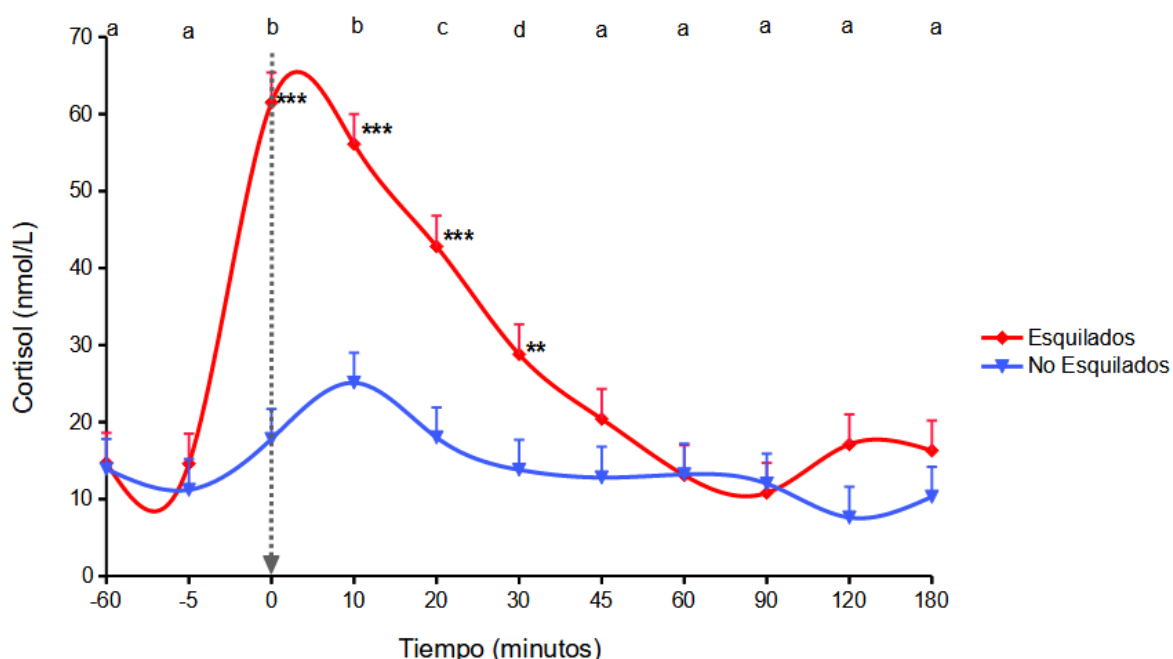


Figura 19. Cortisol en carneros esquilados (-♦-) o no esquilados (-▼-).

La flecha indica el momento de la esquila invernal. Diferentes letras indican diferencias en el tiempo. ($P<0,0001$).

Asteriscos indican diferencias entre grupos en ese momento ** $P=0,0072$;

*** $P<0,0001$.

7. DISCUSIÓN

La esquila invernal en carneros provocó una respuesta aguda de estrés, evidenciada por un marcado aumento en la concentración sérica de cortisol, uno de los principales indicadores de estrés en ovinos (Möstl & Palme, 2002), que indica la activación del eje HHA (Saplosky et al., 2000). Paralelamente, los carneros esquilados tuvieron un mayor incremento en los niveles de glucemia que los del grupo control, pudiendo deberse a una mayor activación de enzimas de la neoglucogénesis y glucogenólisis a nivel hepático, mediada por el cortisol y la adrenalina (Ungerfeld et al., 2024). Este hallazgo concuerda con estudios previos realizados en diferentes categorías en ovinos, que reportaron que la esquila genera un incremento en el cortisol (Arfuso et al., 2022a; Mousa-Balabel & Salama, 2010; Sanger et al., 2011; Ungerfeld & Freitas-de-Melo, 2019) y en la glucemia (Carcangiu et al., 2008). Asimismo, inmediatamente luego de la esquila se observó un incremento transitorio en la frecuencia cardíaca, el hematocrito y la hemoglobina. Estos cambios sugieren que la esquila generó una rápida activación del SNS (Damián & Ungerfeld, 2013). En este sentido, se ha reportado un aumento en la frecuencia cardíaca, el hematocrito y en la hemoglobina en carneros luego de la electroeyaculación, situación que también genera una importante respuesta aguda de estrés (Damián & Ungerfeld, 2011). En la presente tesis, los cambios hematológicos generados por la esquila posiblemente fueron causados por la contracción esplénica inducida por las catecolaminas, que genera la expulsión de los eritrocitos almacenados en el bazo a la circulación (Arfuso et al., 2022b; Ungerfeld et al., 2024). Este hallazgo coincide con estudios previos realizados en capones y ovejas, que reportaron un incremento coincidente con la esquila en la frecuencia cardíaca (Hargreaves & Hutson, 1990b; Mousa-Balabel & Salama, 2010), y en el hematocrito (Hargreaves & Hutson, 1990a; Hargreaves & Hutson, 1990b). Teniendo en cuenta que la esquila generó modificaciones en solamente algunos de los biomarcadores de estrés, y respuestas muy cortas en otros, se podría especular que los carneros utilizados en este estudio se adaptaron rápidamente al estrés de la esquila. Esto podría ser debido a que los carneros utilizados en este estudio habían recibido un período de estímulo táctil positivo aplicado por humanos que mejoró la calidad del vínculo humano-animal (Chaumont et al. 2021; Tallet et al., 2005). Posiblemente este manejo mitigó la respuesta de estrés de estos carneros a los manejos relacionados a la esquila, ya que la aplicación de cepillado en estos mismos animales tendió a reducir la respuesta de estrés luego de la electroeyaculación (Orihuela et al., 2024).

Por otra parte, varios indicadores de estrés utilizados en este estudio cambiaron en ambos grupos de carneros luego de la esquila (temperatura rectal, temperatura superficial ocular, la concentración relativa de linfocitos, los granulocitos absolutos, la concentración relativa de granulocitos, las proteínas totales y la albúmina). Estos resultados podrían estar relacionados a la presencia de cierto grado de estrés en los carneros no esquilados, ya que estos tenían contacto visual y auditivo con el proceso de esquila. Asimismo, teniendo en cuenta que estos carneros fueron esquilados anteriormente, estas respuestas podrían estar relacionadas con la anticipación de un evento estresante en los carneros del grupo control, como se ha observado en estudios previos en ovejas (Sanger et al., 2011). En ambos grupos de carneros se observó un aumento transitorio de la temperatura rectal y superficial

ocular luego de la esquila que puede deberse a la activación del SNS, que produce vasoconstricción periférica, provocando el incremento de la temperatura corporal (Herborn et al. 2015), y redistribución del flujo sanguíneo en los lechos capilares alrededor del borde posterior del párpado y la carúncula lagrimal causando el incremento de la temperatura superficial ocular (Cannas et al., 2018; Herborn et al. 2015). Asimismo, se observó en ambos grupos una disminución de la concentración relativa de linfocitos, luego de la esquila, que puede deberse a la acción supresora a nivel del sistema inmunitario causada por el cortisol (Saplosky et al., 2000). Por otro lado, se observó un incremento de los granulocitos absolutos y la concentración relativa de granulocitos luego de la esquila, que puede deberse a la neutrofilia causada por los glucocorticoides (Griffin, 1989). En ambos grupos de carneros también se observó un incremento de las proteínas totales, que comenzó 5 minutos antes de la esquila, que puede deberse al rol permisivo que cumplen los glucocorticoides en la síntesis de globulinas de fase aguda (Arfuso et al., 2022b). Por otra parte, se observó en ambos grupos un incremento inesperado de la albúmina, esto puede deberse a que el cortisol circula mayoritariamente unido a proteínas, principalmente albúmina y globulina (Moberg & Mench, 2000; Mormède et al., 2007).

8. CONCLUSIONES

La esquila invernal desencadenó una respuesta de estrés aguda en los carneros, caracterizada por un incremento en las concentraciones de cortisol y glucemia. También se observó que la esquila invernal generó algunas respuestas agudas muy cortas, como un incremento en la frecuencia cardíaca, hematocrito y hemoglobina. Dado que la esquila generó cambios de solamente algunos de los biomarcadores de estrés, y respuestas muy cortas en otros, se podría inferir que los carneros utilizados en este estudio tenían una buena capacidad para mantener la homeostasis ante el estrés de la esquila. Por otra parte, varios indicadores de estrés utilizados en este estudio cambiaron en ambos grupos de carneros luego de la esquila, indicando la posibilidad de cierto grado de estrés por la anticipación de un evento estresante en los carneros que no fueron esquilados, ya que estos tenían contacto visual y auditivo con el proceso de esquila.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abril-Sánchez, S., Freitas-de-Melo, A., Damián, J. P., Giriboni, J., Villagrà-García, A., & Ungerfeld, R. (2017). Ejaculation does not contribute to the stress response to electroejaculation in sheep. *Reproduction in Domestic Animals*, 52(3), 403-408.
- Arfuso, F., Acri, G., Piccione, G., Sansotta, C., Fazio, F., Giudice, E., & Giannetto, C. (2022a). Eye surface infrared thermography usefulness as a noninvasive method of measuring stress response in sheep during shearing: Correlations with serum cortisol and rectal temperature values. *Physiology & Behavior*, 250, 113781.
- Arfuso, F., Fazio, F., Chikhi, L., Aymond, G., Piccione, G., & Giannetto, C. (2022b). Acute stress response of sheep to shearing procedures: Dynamic change of cortisol concentration and protein electrophoretic pattern. *Animals*, 12(7), 862.
- Berretta, E. J., Montossi, F., & Brito, G. (Eds.). (2014). *Alternativas tecnológicas para los sistemas ganaderos del basalto*. INIA.
- Brandenberger, G., Follenius, M., Hietter, B., Reinhardt, B., & Simeoni, M. (1982). Feedback from meal-related peaks determines diurnal changes in cortisol response to exercise. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 54(3), 592-596.
- Cannas, S., Palestini, C., Canali, E., Cozzi, B., Ferri, N., Heinzl, E., Minero, M., Chincarini, M., Vignola, G., & Dalla Costa, E. (2018). Thermography as a non-invasive measure of stress and fear of humans in sheep. *Animals*, 8(9), 146.
- Cannon, W. B. (1929). Organization for physiological homeostasis. *Physiological Reviews*, 9(3), 399-431.
- Carámbula M. (1991). *Aspectos relevantes para la producción forrajera*. INIA
- Carcangiu, V., Vacca, G. M., Parmeggiani, A., Mura, M. C., Pazzola, M., Dettori, M. L., & Bini, P. P. (2008). The effect of shearing procedures on blood levels of growth hormone, cortisol and other stress haematochemical parameters in Sarda sheep. *Animal*, 2(4), 606-612.
- Chaumont, S., Freitas-de-Melo, A., Pinto-Santini, L., Menant, O., Zambra, N., & Ungerfeld, R. (2021). Rams recognize and prefer the human who regularly brushed them. *Applied Animal Behaviour Science*, 236, 105250.
- Chung, S., Son, G. H., & Kim, K. (2011). Circadian rhythm of adrenal glucocorticoid: its regulation and clinical implications. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1812(5), 581-591.
- Colborn, D. R., Thompson, Jr, D. L., Roth, T. L., Capehart, J. S., & White, K. L. (1991). Responses of cortisol and prolactin to sexual excitement and stress in stallions and geldings. *Journal of Animal Science*, 69(6), 2556-2562.
- Collier, R. J., & Gebremedhin, K. G. (2015). Thermal biology of domestic animals. *Annual Review of Animal Biosciences*, 3(1), 513-532.
- Collier, R. J., Renquist, B. J., & Xiao, Y. (2017). A 100-Year Review: Stress physiology including heat stress. *Journal of Dairy Science*, 100(12), 10367-10380.
- Corrales-Hlinka, F., Freitas-de-Melo, A., Ungerfeld, R., & Pérez-Clariget, R. (2023). Thermoregulatory, metabolic and stress responses to spring shearing of aged ewes born to undernourished mothers. *Journal of Thermal Biology*, 113, 103503.

- Damian, J.P., & Ungerfeld, R. (2011). The stress response of frequently electroejaculated rams to electroejaculation: hormonal, physiological, biochemical, haematological and behavioural parameters. *Reproduction in Domestic Animals*, 46, 646-650. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2010.01722.x>.
- Damián, J. P., & Ungerfeld, R. (2013). Indicadores de bienestar animal en especies productivas: una revisión crítica. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, 21(2), 103-113.
- Dawood, T., Williams, M. R., Fullerton, M. J., Myles, K., Schuijers, J., Funder, J. W., Sudhir, K., & Komesaroff, P. A. (2005). Glucocorticoid responses to stress in castrate and testosterone-replaced rams. *Regulatory Peptides*, 125(1-3), 47-53.
- Earley et al., 2010: Earley, B., Buckham-Sporer, K., Gupta, S. K. S., Pang, W., & Ting, S. K. S. (2010). Biologic response of animals to husbandry stress with implications for biomedical models. *Open Access Animal Physiology*, 2, 25-42.
- Ferin, M. (2006). Stress and the Reproductive System. En J. D. Neill (Ed.), *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction* (3rd ed., pp. 2627-2696). Elsevier.
- Freitas-de-Melo, A., Pinto-Santini, L., Neimaur, K., Cal-Pereyra, L., Fonsêca, V., & Ungerfeld, R. (2023). Esquila parto, termorregulación y resultados productivos en ovinos. *Albéitar*, 260, 18-21.
- Freitas-de-Melo, A., Ungerfeld, R., Orihuela, A., Hötzel, M. J., & Pérez-Clariget, R. (2018). Restricción alimenticia durante la gestación y vínculo madre-cría en ovinos: una revisión. *Veterinaria (Montevideo)*, 54(210), 27-36.
- Griffin, J. F. T. (1989). Stress and immunity: a unifying concept. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 20(3), 263-312.
- Hargreaves, A. L., & Hutson, G. D. (1990a). The stress response in sheep during routine handling procedures. *Applied Animal Behaviour Science*, 26(1-2), 83-90.
- Hargreaves, A. L., & Hutson, G. D. (1990b). Changes in heart rate, plasma cortisol and haematocrit of sheep during a shearing procedure. *Applied Animal Behaviour Science*, 26(1-2), 91-101.
- Herborn, K. A., Graves, J. L., Jerem, P., Evans, N. P., Nager, R., McCafferty, D. J., & McKeegan, D. E. (2015). Skin temperature reveals the intensity of acute stress. *Physiology & Behavior*, 152, 225-230.
- Hulet, C. V., El-Sheikh, A. S., Pope, A. L., & Casida, L. E. (1956). The effects of shearing and level of feeding on fertility of rams. *Journal of Animal Science*, 15(3), 617-624.
- Klein, B. G. (Ed.). (2021). *Cunningham's textbook of veterinary physiology* (6th ed.). Elsevier.
- Lacuesta, L., & Ungerfeld, R. (2012). Sexual performance and stress response of previously unknown rams after grouping them in dyads. *Animal Reproduction Science*, 134(3-4), 158-163. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.08.021>
- Lópoez-Armengol, M. F., Freund, R. P., Giménez, G. N., & Rubio, N. (2017). Effect of extreme severe heat stress on respiratory rate in unshorn and shorn Australian Merino rams from Northern Patagonia. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 54(1), 36-47.

- Marik, P. E., & Bellomo, R. (2013). Stress hyperglycemia: an essential survival response!. *Critical Care*, 17, 1-7.
- Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. (2023). *Estadísticas Agropecuarias. Anuario Estadístico Agropecuario* 2023. <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/comunicacion/publicaciones/anuario-estadistico-agropecuario-2023>
- Moberg, G. P., & Mench, J. A. (Eds.). (2000). *The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare*. CABI.
- Mormède, P., Andanson, S., Aupérin, B., Beerda, B., Guémené, D., Malmkvist, J., Manteca, x. Manteuffel, G., Prunet, P., van Reenen, C.G., Richard, S., & Veissier, I. (2007). Exploration of the hypothalamic–pituitary–adrenal function as a tool to evaluate animal welfare. *Physiology & Behavior*, 92(3), 317-339.
- Morris, S. T., McCutcheon, S. N., & Revell, D. K. (2000). Birth weight responses to shearing ewes in early to mid gestation. *Animal Science*, 70(2), 363-369.
- Möstl, E., & Palme, R. (2002). Hormones as indicators of stress. *Domestic Animal Endocrinology*, 23(1-2), 67-74.
- Mousa-Balabel, T. M., & Salama, M. A. (2010). Impact of shearing date on behaviors and performances of pregnant Rahmani ewes. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 41, 1196-1200.
- Orihuela, J. C., Freitas-de-Melo, A., Pinto-Santini, L., Giriboni, J., Beracochea, F., Viera, M. N., & Ungerfeld, R. (2024). Brushing rams before and during electroejaculation improves sperm motility and kinetics with slight changes in stress biomarkers. *Animal Reproduction Science*, 268, 107565.
- Pacak, K., & Palkovits, M. (2001). Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implications for stress-related disorders. *Endocrine Reviews*, 22(4), 502-548.
- Panjono, P., Ibrahim, A., Ngadiyono, N., Maulana, H., & Atmoko, B.A. (2024) Effect of shearing on thermo-physiological, behavior, and productivity traits of two Indonesian local sheep breeds. *Tropical Animal Science Journal*, 47, 42-52. <https://doi.org/10.5398/tasj.2024.47.1.42>
- Petersen, H., Nielsen, J., & Heegaard, P. M. H. (2004). Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. *Veterinary Research*, 35(2), 163-187.
- Pierzchala, K., Bobek, S., Niezgoda, J., & Ewy, Z. (1983). The effect of shearing on the concentration of cortisol and thyroid hormones in the blood plasma of sheep. *Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe A*, 30(9), 749-759.
- Piirsalu, P., Kaart, T., Nutt, I., Marcone, G., & Arney, D. (2020). The effect of climate parameters on sheep preferences for outdoors or indoors at low ambient temperatures. *Animals*, 10(6), 1029.
- Revella, D. K., Main, S. F., Breier, B. H., Cottam, Y. H., Hennies, M., & McCutcheon, S. N. (2000). Metabolic responses to mid-pregnancy shearing that are associated with a selective increase in the birth weight of twin lambs. *Domestic Animal Endocrinology*, 18(4), 409-422.

- Riani, A. (2023). Situación y perspectivas de la cadena ovina. En *Anuario OPYPA*. Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca.
- Sanger, M.E., Doyle, R.E., Hinch, G.N., Lee, C. (2011). Sheep exhibit a positive judgement bias and stress-induced hyperthermia following shearing. *Applied Animal Behaviour Science*, 131, 94-103
- Sapolsky, R. M., Romero, L. M., & Munck, A. U. (2000). How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocrine Reviews*, 21(1), 55-89.
- Sapolsky, R. M. (2004). Social status and health in humans and other animals. *Annual Review of Anthropology*, 33, 393-418.
- Secretariado Uruguayo de la Lana. (2018). *Manual Práctico de Producción Ovina*.
- Secretariado Uruguayo de la Lana. (2022). *Informe Sector Lanero Uruguay XXI*.
- Secretariado Uruguayo de la Lana. (s.f.). La producción ovina en Uruguay.
- Symonds, M. E., Bryant, M. J., Shepherd, D. A. L., & Lomax, M. A. (1988). Glucose metabolism in shorn and unshorn pregnant sheep. *British Journal of Nutrition*, 60(2), 249-263.
- Tallet, C., Veissier, I., & Boivin, X. (2005). Human contact and feeding as rewards for the lamb's affinity to their stockperson. *Applied Animal Behaviour Science*, 94, 59-73. 10.1016/j.applanim.2005.02.007
- Ungerfeld, R., & Freitas-de-Melo, A. (2019). Stress and behavioural responses to winter shearing differ between pregnant and non-pregnant ewes. *Physiology & Behavior*, 210, 112653
- Ungerfeld, R., & de Melo, A. F. (2021). Esquila de ovinos: adaptaciones fisiológicas, estrés y bienestar animal. *Albéitar*, (244), 20-22.
- Ungerfeld, R., Lacuesta, L., & Freitas de Melo, A. (2024). Evaluación fisiológica del bienestar animal: indicadores de estrés y dolor. En R. Ungerfeld, L. Lacuesta, & A. Freitas de Melo (Eds.), *Etología aplicada: Fundamento científico del comportamiento y bienestar animal* (pp. 297-313). Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Yardimci, M., Sahin, E. H., Cetingul, I. S., Bayram, I., Aslan, R., & Sengor, E. (2013). Stress responses to comparative handling procedures in sheep. *Animal*, 7(1), 143-150.
- Zelena, D., Mergl, Z., Foldes, A., Kovacs, K. J., Toth, Z. S., & Makara, G. B. (2003). Role of hypothalamic inputs in maintaining pituitary-adrenal responsiveness in repeated restraint. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 285(5), E1110-E1117.