



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE POSTGRADO

**EFFECTO DEL TIPO RACIAL (SUFFOLK DOWN Y MERINO PRECOZ)
Y EDAD DE OVEJAS SOBRE ALGUNOS INDICADORES DE ESTRÉS
DURANTE EL PROCESO DE ESQUILA.**

Tesis para optar al Título Profesional de Ingeniero Agrónomo y al Grado de
Magíster en Ciencias Agropecuarias.

BASTIÁN ANDRÉS FREDES CONTRERAS

Director de Tesis
GIORGIO CASTELLARO GALDAMES

Co-Directora de Tesis
TAMARA TADICH GALLO

Profesores consejeros
Héctor Uribe Muñoz
Luis Raggi Saini

SANTIAGO - CHILE
2019

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE POSTGRADO

EFECTO DEL TIPO RACIAL (SUFFOLK DOWN Y MERINO PRECOZ) Y EDAD DE
OVEJAS SOBRE ALGUNOS INDICADORES DE ESTRÉS DURANTE EL PROCESO
DE ESQUILA

Tesis presentada como parte de los requisitos para optar al Título Profesional de
Ingeniero Agrónomo y al Grado de Magíster en Ciencias Agropecuarias.

BASTIÁN ANDRÉS FREDES CONTRERAS

	Calificaciones (Memoria de Título)	Calificaciones (Tesis de Grado)
DIRECTOR DE TESIS		
Giorgio Castellaro Galdames	6,8	6,8
Ingeniero Agrónomo, Mg. Sc.		
CO-DIRECTORA DE TESIS		
Tamara Tadich Gallo	7,0	7,0
Médico Veterinario, Ph. D.		
PROFESORES CONSEJEROS		
Héctor Uribe Muñoz	6,5	6,5
Médico Veterinario. Ph. D.		
Luis Raggi Saini	7,0	7,0
Médico Veterinario. Ph. D.		

Santiago, Chile
2019

*Para mi mamá que ha sabido
dejar todo por sus hijos
y darnos lo mejor de ella
para que hoy seamos
las personas que somos.*

AGRADECIMIENTOS

A mi mamá, el pelao, mis hermanos y mi familia en general que siempre me apoyó y me impulsó a estudiar y seguir mejorando como futuro profesional, amigo, hijo, hermano y como persona.

A mi negra que me ha apoyado en todo (incluso a tomar muestras), ha sido mi soporte, mi familia y mi partner. Siempre apañadora y jugada en lo que fue, es y lo que será... Te amo.

Al profe Giorgio por recibirme como su alumno y siempre estar dispuesto para ayudarme en lo que fuera necesario. Por guiar los trabajos de sus alumnos y soportar que nos demoremos en terminar las tesis.

A la profe Tamara que siempre estuvo dispuesta a resolver mis dudas con una respuesta rápida y una sonrisa sin importar las veces que la molestaba. Y por su apoyo para llevar a cabo esta tesis.

A los chiquillos del laboratorio, al JP, a la Carlita, al Negro, al Peter, a la Maricarmen y al Juanito, que me recibieron con los brazos abiertos y no dudaron en ayudarme cuando lo necesitaba (incluso dándome pega).

A mi amigo Samuel por el apoyo, las conversas, por estar en los momentos de alegría y desesperación que se viven durante el proceso de escritura de la tesis y de toda la carrera.

A mis amigos “los herbáceos” que siempre han sido los mejores, y aunque estamos medios distanciados cada uno en su área, siempre podremos contar con el otro.

A la Rocío, la Cony y la Jazmín por el apoyo y por su amistad en todos estos años.

A Secretaría del Magíster, a Marjorie Sáez, la Sra. Jeannette Pizá y Mercedes Tapia por siempre tener la mejor disposición de escucharme, solucionar mis dudas y problemas administrativos.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	I
RESUMEN.....	II
ABSTRACT	III
INTRODUCCIÓN	1
HIPÓTESIS.....	3
OBJETIVO.....	3
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
MATERIALES Y MÉTODOS	4
Ubicación del estudio.....	4
Material biológico.....	4
Diseño experimental.....	4
Variables medidas.....	5
Manejo del ensayo.....	5
Toma de muestras	5
Análisis estadístico.....	7
RESULTADOS.....	8
Efecto de los factores raza y edad sobre las variables estudiadas.....	8
Indicadores Fisiológicos.....	8
Indicadores Hematológicos.....	9
Indicadores Bioquímicos.....	10
Indicadores Endocrinos.....	10
Indicadores Conductuales	13
Efecto de la esquila sobre las variables estudiadas.....	14
Indicadores Fisiológicos.....	14
Indicadores Hematológicos.....	15
Indicadores Bioquímicos.....	15
Indicadores Endocrinos.....	16
Indicadores Conductuales	16
DISCUSIÓN	17
CONCLUSIONES	23
LITERATURA CITADA.....	24

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Efecto de la raza de la oveja sobre variables Fisiológicas, Hematológicas, Bioquímicas y Endocrinas posterior a la esquila. Valores medios \pm error estándar.	11
Cuadro 2. Efecto de la edad de la oveja sobre variables Fisiológicas, Hematológicas, Bioquímicas y Endocrinas posterior a la esquila. Valores medios \pm error estándar.	12
Cuadro 3. Coeficientes y grado de significancia de las covariables analizadas en todos los animales.....	13
Cuadro 4. Medias de las variables conductuales vocalizaciones e intentos de escape según raza y edad.....	13
Cuadro 5. Diferencias de promedios obtenidos en las variables fisiológicas, hematológicas, bioquímicas, endocrinas y conductuales de ovejas suffolk y merino precoz, medidas antes e inmediatamente después de ser esquiladas. Promedios \pm desviación estándar y grados significancia de la diferencia de las medias ($P < 0,05$).	14

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema del diseño experimental utilizado, de acuerdo a la raza y experiencia de los animales.....	4
---	---

ÍNDICE APÉNDICES

APÉNDICE 1	28
-------------------------	----

ÍNDICE DE FIGURAS DE APÉNDICE

Figura de Apéndice 1. Frecuencia Cardiaca de ovejas medidas antes e inmediatamente después de ser esquiladas.....	28
Figura de Apéndice 2. Frecuencia Respiratoria de ovejas medidas antes e inmediatamente después de ser esquiladas.....	29
Figura de Apéndice 3. Temperatura Rectal de ovejas medidas antes e inmediatamente después de ser esquiladas.....	30
Figura de Apéndice 4. Hematocrito de ovejas medido antes e inmediatamente después de ser esquiladas.....	31
Figura de Apéndice 5. Concentración de Eritrocitos de ovejas medidas antes e inmediatamente después de ser esquiladas.....	32
Figura de Apéndice 6. Concentración de Linfocitos de ovejas medidas antes e inmediatamente después de ser esquiladas.....	33
Figura de Apéndice 7. Concentración de Neutrófilos de ovejas medidas antes e inmediatamente después de ser esquiladas.....	34
Figura de Apéndice 8. Relación Neutrófilos:Linfocitos de ovejas medidas antes e inmediatamente después de ser esquiladas.....	35
Figura de Apéndice 9. Glicemia de ovejas medida antes e inmediatamente después de ser esquiladas.....	36
Figura de Apéndice 10. Cortisol de ovejas medido antes e inmediatamente después de ser esquiladas.....	37

RESUMEN

En los sistemas de producción ovina existen manejos rutinarios, como la esquila, que podrían causar estrés en los animales. Por esto, el objetivo de este estudio fue determinar de qué manera la raza y edad de ovejas afecta su respuesta de estrés provocado por la esquila. Para esto, se implementó un diseño aleatorio con estructura factorial 2x2. Se establecieron 4 grupos de 14 ovejas cada uno, correspondientes a las combinaciones de dos razas (Merino Precoz y Suffolk Down) y dos edades (con experiencia previa y sin experiencia previa). La frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, temperatura rectal, hematocrito, eritrocitos, linfocitos, neutrófilos, relación Neutrófilos:Linfocitos, glicemia, cortisol, vocalizaciones e intentos de escape fueron las variables indicadoras de estrés medidas antes y después de la esquila. Los resultados no lograron establecer interacción de los factores estudiados. El cortisol, los neutrófilos, el hematocrito, los eritrocitos y la frecuencia respiratoria no presentaron efecto para ninguno de los factores estudiados. De los anteriores solo en el cortisol se observó un efecto significativo de la esquila. El factor raza afectó significativamente la glicemia, los linfocitos y la temperatura rectal indicando una mayor respuesta de estrés para la raza Merino Precoz. La frecuencia cardíaca y la temperatura rectal acusaron un efecto de la edad sobre su comportamiento indicando que las ovejas sin experiencia previa se estresan más que las que han experimentado el manejo anteriormente, sin embargo, la relación Neutrófilos:Linfocitos indica lo contrario, donde ovejas con experiencia previa se vieron más afectadas que las no experimentadas. De los indicadores conductuales sólo los intentos de escape mostraron diferencias producto de la edad dentro de la raza Suffolk Down, siendo las ovejas sin experiencia previa las que presentaron frecuencias más altas. Los factores raza y edad afectan el comportamiento de las variables estudiadas, aunque estas respuestas también parecen estar influenciadas por factores individuales.

Palabras clave: Esquila – Estrés – Merino Precoz – Suffolk Down – Ovinos.

ABSTRACT

Husbandry practices, such as shearing, may cause stress in sheep production systems. The aim of this study was to determine if breed and age of sheep affect their stress response caused by shearing. For this, a completely randomized design with a 2x2 factorial structure was implemented, where four groups of 14 sheep corresponding to the combinations of two breeds (Merino Precoz and Suffolk Down) and two ages (with previous experience and without previous experience) were established. Heart rate, respiratory rate, rectal temperature, hematocrit, erythrocytes, lymphocytes, neutrophils, neutrophil:lymphocyte ratio, glycaemia, cortisol, vocalizations and escape attempts were the stress indicator variables measured before and after shearing. Results showed no interaction among the studied factors. Cortisol, neutrophils, hematocrit, erythrocytes and respiratory rate showed no effect of any of the studied factors. Of the above, only for cortisol a significant effect of shearing was observed. Breed effect significantly affected glycaemia, lymphocytes and rectal temperature, indicating a greater response of the Merino Precoz breed. Heart rate and rectal temperature were affected by age showing that sheep without previous experience were more stressed than those with previous shearing experiences, however, the neutrophil: lymphocyte ratio indicates otherwise, where sheep with previous experience were more affected than those with no previous experiences. Of the behavioral indicators assessed, only escape attempts showed differences due to age within the Suffolk Down breed, sheep with no previous experience presented a higher frequency of this behavior. Breed and age affected the behavior of the variables studied, although these responses also seem to be influenced by individual differences.

Keywords: Merino Precoz – Shearing – Sheep – Stress – Suffolk Down.

INTRODUCCIÓN

La respuesta de estrés corresponde a una respuesta biológica normal frente a un estímulo que es considerado una amenaza para el organismo (Moberg y Mench, 2000), respuesta que en algunas situaciones podría alterar el bienestar de los animales. La respuesta del estrés involucra componentes neuroendocrinos, conductuales e inmunológicos, por lo que, si esta respuesta es exagerada o mantenida en el tiempo, puede amenazar el bienestar animal (Rossner *et al.*, 2010).

Bienestar animal se puede definir como el estado en que se encuentra un animal en relación con sus intentos de adaptarse a su ambiente (Broom, 1986). Estos deben encontrarse sanos, cómodos, bien nutridos y seguros de tal manera que expresen sus comportamientos naturales y se encuentren libres de sensaciones como el dolor o el miedo. Además, se debe llevar a cabo un buen manejo, alimentación, adecuados tratamientos veterinarios (tanto preventivos como curativos), una manipulación y un sacrificio compasivo (SAG, 2017).

En general, las situaciones más estresantes están asociadas al miedo, el cual puede presentarse cuando el animal se enfrenta a distintos aspectos del manejo rutinario como son el transporte de ganado, el aislamiento y la esquila (Grandin, 1997; Damian y Ungerfeld, 2013). La novedad también es un factor relevante en cuanto a estresores, y esto se explica porque las especies que son presa en el ambiente silvestre tienden a desencadenar reacciones para la fuga al momento de enfrentarse a situaciones nuevas o desconocidas (neofobia) (Grandin, 1997).

También existen manejos que, a pesar de no ser novedosos ni dolorosos, resultan ser extremadamente estresantes, en especial en ovinos, como lo es la atadura de sus patas. Hutson (1985), determinó que para los ovinos es muy estresante estar invertidos por completo (en posición decúbito dorsal). A su vez, Carcangiu *et al.* (2008) demostraron que ovejas de distintas edades se estresaban con manejos rutinarios como la esquila. El aislamiento resultó ser un estresor para corderos que sólo fueron separados del rebaño e impedidos de tener contacto visual con este. Corderos separados del rebaño que fueron atados de sus patas y tendidos en el suelo por un total de 2 minutos (simulado una esquila), aumentaron sus niveles de cortisol plasmático significativamente respecto a las mediciones previas a la aplicación del tratamiento. Del mismo modo, ovejas esquiladas demostraron que la esquila es un manejo estresante que logra aumentar los niveles de distintas variables que pueden determinar estrés en los animales (Carcangiu *et al.*, 2008).

Los principales problemas que se presentan al momento de la esquila son los maltratos (intencionales o no) que, por poca fiscalización durante los manejos, desconocimiento o simple negligencia de los trabajadores, pueden terminar en accidentes en el galpón. Desde este punto de vista, tamaños inadecuados del galpón de esquila y pisos resbaladizos o irregulares también son calificados como negligencias, así como las malas prácticas de los trabajadores, debido a que producen estrés en los animales (Domínguez, 2013).

Otros problemas asociados a la esquila son el estrés causado por el aislamiento, la sujeción y también los posibles cortes y heridas efectuadas con las máquinas al momento de esquila. Estas últimas, en general, son producidas principalmente por la falta de habilidad por parte del esquilador para realizar esta práctica (Dwyer, 2008).

La determinación de estrés en ovinos se puede realizar mediante distintos indicadores, los cuales se conocen como indicadores de bienestar animal. Estos varían según su naturaleza, siendo del tipo fisiológicos (bioquímicos, hematológicos, endocrinos, entre otros), conductuales, productivos, sanitarios y ambientales (Damian y Ungerfeld, 2013).

Ante una situación de estrés, se produce la activación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal que desencadena una serie de reacciones que terminan reflejándose en un aumento de la secreción de hormonas glucocorticoides (cortisol y corticosterona) (DeVries *et al.*, 2003). El aumento de la concentración de cortisol en la sangre estimula el catabolismo de proteínas y lípidos de reserva lo que se traduce un aumento del proceso de gluconeogénesis y, por lo tanto, un aumento de la concentración de glucosa en sangre (glicemia) (Damian y Ungerfeld, 2013; Pordomingo, 2013). Indicadores como la frecuencia cardiaca, la frecuencia respiratoria y la temperatura corporal (indicadores fisiológicos) aumentan en condiciones de estrés, así como la glicemia (indicador bioquímico) y el cortisol (indicador endocrino). Indicadores hematológicos como la concentración de leucocitos, linfocitos, neutrófilos, eritrocitos y porcentaje de hematocrito también cambian en presencia de un estresor. Además, el estrés se puede ver reflejado en indicadores conductuales como la disminución del apetito y tiempo de rumia, el aumento en la frecuencia de defecaciones, aumento en las vocalizaciones, aumento de conductas agresivas (intentos de escape), y alteraciones de movimientos como al echarse o pararse, así como el desarrollo de estereotipias (Damian y Ungerfeld, 2013).

Manteca (2004), afirma que las ovejas son capaces de recordar eventos hasta 3 años después de ocurridos, existiendo antecedentes que demuestran que animales enseñados a interactuar con humanos y a los manejos de rutina desde etapas tempranas de su desarrollo, son menos propensos a presentar condiciones de estrés como respuesta a los distintos manejos (Grandin, 1997).

Por otro lado, El-Barody y Luikart (2000, citado por Meza-Herrera *et al.*, 2002) en Egipto midieron los niveles de algunos indicadores de bienestar animal en distintas razas de cabras, obteniendo como resultado diferencias en los niveles de cortisol y aldosterona al someterlas a estrés térmico. Por el contrario, Meza-Herrera *et al.*, (2002) no detectaron diferencias significativas en los niveles de cortisol ni glucosa plasmática en distintos genotipos de cabras expuestas igualmente a estrés térmico.

Durante los manejos rutinarios en la Estación Experimental Germán Greve Silva de la Universidad de Chile, se ha podido notar diferencias en el comportamiento de distintas razas de ovinos, así como en animales de diferentes edades. Es por esto que, la poca claridad en cuanto a la implicancia que tienen factores como la raza y la edad de ovinos frente a las respuestas de estrés gatilladas por el proceso de esquila, sumado a la creciente necesidad de conocer y comprender sobre indicadores de estrés que afectan el bienestar de los animales y lo observado durante trabajos en terreno, son las principales motivaciones de este estudio.

HIPÓTESIS

Ovejas de raza Suffolk Down presentan mayor nivel de estrés al momento de la esquila en comparación a ovejas de la raza Merino Precoz, independiente de su experiencia frente a este manejo.

OBJETIVO

Determinar el efecto que tienen la raza Suffolk Down y Merino Precoz y la experiencia al manejo de la esquila (borregas de primera esquila versus ovejas de dos o más esquilas), sobre algunos indicadores de estrés fisiológicos y conductuales durante el proceso de esquila.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar el efecto que tiene la raza (Suffolk Down y Merino Precoz) y la experiencia previa al manejo de la esquila (borregas de primera esquila versus ovejas de dos o más esquilas), sobre las variables fisiológicas y conductuales durante el proceso de esquila.

Determinar el efecto que tiene el proceso de esquila de ovejas sobre las variables fisiológicas y conductuales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del estudio

Este estudio se llevó a cabo la Estación Experimental Germán Greve Silva (33° 28' Lat. S.; 70° 51' Long. O.; 470 m.s.n.m.), perteneciente a la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, ubicada en la comuna de Maipú, Región Metropolitana, Chile.

Material biológico

El experimento constó con un total de 56 hembras ovinas. De estas, 28 fueron de la raza Suffolk Down, 14 correspondieron a borregas de primera esquila (17 meses de edad aproximadamente) y 14 a ovejas con experiencia previa (1 a 4 esquilas). De la misma forma, los 28 animales restantes de la raza Merino Precoz, se dividieron en 2 grupos; 14 borregas de primera esquila y 14 ovejas con experiencia previa al proceso (Figura 1).

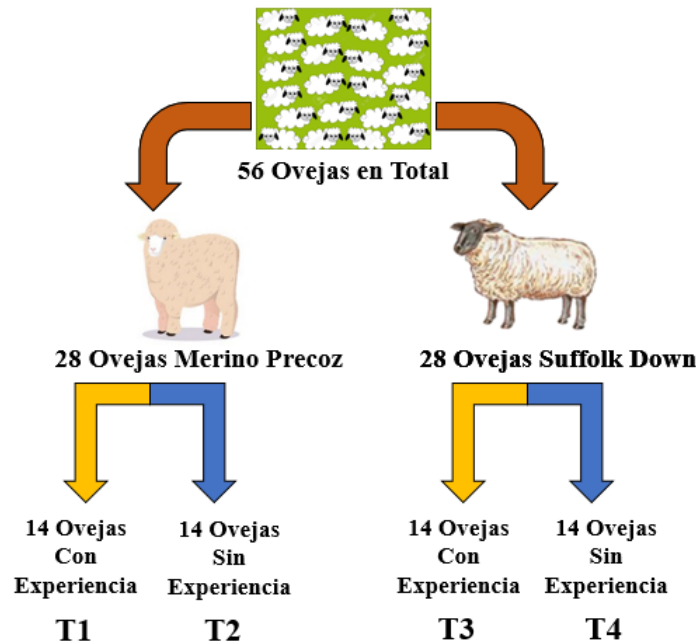


Figura 1. Esquema del diseño experimental utilizado, de acuerdo a la raza y experiencia de los animales.

Diseño experimental

El experimento tuvo un diseño completamente aleatorio con estructura factorial de dos factores (2x2). Los factores raza (Suffolk Down y Merino Precoz) y edad (sin experiencia previa y con experiencia previa) tuvieron dos niveles cada uno. Además, se incluyó una covariable que correspondió a cada variable, pero medida antes del proceso de esquila. De esta forma, el experimento constó de 4 tratamientos, como se describe en el esquema anterior. La unidad experimental fue la oveja.

Variables medidas

Las variables que fueron medidas se pueden clasificar según su naturaleza, teniendo así variables fisiológicas, hematológicas, bioquímicas, endocrinas, además de variables conductuales.

Las variables fisiológicas medidas fueron frecuencia cardiaca (latidos min^{-1}), frecuencia respiratoria (exhalaciones min^{-1}) y temperatura rectal (T°). Las variables hematológicas fueron hematocrito (%), eritrocitos (mm^{-3}), linfocitos (mm^{-3}), neutrófilos (mm^{-3}) y la relación Neutrófilos:Linfocitos. También se midió una única variable de tipo bioquímico la cual fue la glicemia (mg dL^{-1}). Adicionalmente se midió la hormona cortisol ($\mu\text{g L}^{-1}$) que corresponde a una variable de tipo endocrina y las variables conductuales fueron número de vocalizaciones y número de intentos de escape.

Manejo del ensayo

Una semana antes de la realización del experimento se removió parte del vellón (específicamente en la zona del cuello) para poder facilitar la colecta de las muestras de sangre.

Durante el experimento se buscó ser lo más realista y ejecutar el experimento de la manera más similar posible al manejo normal de esquila que se hace cada año en la Estación Experimental Germán Greve Silva.

De esta manera, antes de esquila a las ovejas, se las tomó de entre el grupo experimental aleatoriamente y se tomaron las muestras de todas las variables a medir. Posteriormente fueron llevadas a la zona de esquila donde se procedió a la esquila, manejo que fue realizado mediante la técnica “Tally Hi” y con una máquina esquiladora marca Lister, modelo Nexus. Por último, inmediatamente terminada la labor de esquila, se tomaron nuevamente las muestras de todas las variables.

Posterior al muestreo, las ovejas fueron liberadas y devueltas al corral de espera para no perder el efecto de grupo.

Luego de terminar todo este proceso con una oveja, se procedió con la siguiente (generalmente de diferente raza) y así sucesivamente. El experimento tuvo una duración de 4 días.

Toma de muestras

Los datos de temperatura rectal fueron registrados en cada oveja mediante el uso de un termómetro digital (Omron, modelo MC-343F, China). Las frecuencias cardiaca y respiratoria se obtuvieron a través de un estetoscopio (Bokang®, modelo BK3007, China), utilizando a su vez dos contadores manuales, uno para registrar la frecuencia cardiaca y otro para la frecuencia respiratoria. Cada una de estas variables fue medida dos veces en cada animal, una previo al proceso de esquila y otra inmediatamente terminada la labor, utilizando un minuto para tomar las tres muestras de manera simultánea por cada oveja.

Las muestras sanguíneas se obtuvieron por punción yugular utilizando vacutainer y agujas de 21 G (Greiner bio-one, modelo Vacuette®, Japón) y recibiendo la muestra de sangre en dos tubos (BD Vacutainer®, EE. UU.) uno sin anticoagulante para las muestras de cortisol y otro con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), anticoagulante para las muestras que se utilizaron para realizar hemogramas. Para el caso de la prueba de glicemia, se realizó una pequeña punción en la oreja con una lanceta (Bayer y modelo ascencia microlet®, Polonia), para de ese modo obtener una gota de sangre la cual se depositó sobre una tira reactiva (Prodigy®, modelo 51800, Taiwan). Esta a su vez se insertó en un glucómetro digital (Prodigy® modelo auto code n° de serie 51850-B08028237, USA) el que arrojó inmediatamente la concentración de glucosa en la sangre. Se muestreó dos veces por animal, una previa a la esquila y la otra posterior al manejo. En las muestras de sangre se midió la hormona cortisol (tubo sin EDTA) y hemograma (tubo con EDTA). Las muestras de sangre se conservaron en un cooler frío para ser derivados posteriormente al Laboratorio de Química Clínica Especializada donde se analizaron las muestras para el hemograma. Para el caso particular de las muestras de cortisol, estas fueron llevadas al laboratorio de Pastizales Naturales y Análisis Dietarios (PANAD) del Departamento de Producción Animal de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, donde luego de la formación del coágulo, se les extrajo el suero a las muestras con una micropipeta y se depositó en tubos eppendorf. Finalizada esta labor se congelaron las muestras de suero a -20°C hasta que fueron derivadas al Laboratorio de Fisiología Animal y Endocrinología de la Universidad de Concepción, para hacer el análisis de cortisol mediante la técnica de radio inmuno ensayo (RIA).

Los indicadores conductuales medidos fueron vocalizaciones e intentos de huida por medio del recuento de estos durante el proceso de la esquila. Adicionalmente, se llevó un conteo de las heridas y su gravedad para eliminar el efecto de este factor en el caso de que fuera relevante en el comportamiento de las variables a estudiar.

Análisis estadístico

Las variables consideradas en este estudio fueron analizadas mediante el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ijk} = \mu + R_i + E_j + (RE)_{ij} + \beta(C) + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = Valor de la variable respuesta.

μ = Media general.

R_i = Efecto de la i -ésima raza (Suffolk Down, Merino precoz).

E_j = Efecto de la j -ésima categoría de edad (borrega sin experiencia previa a la esquila, oveja con experiencia de esquila).

$(RE)_{ij}$ = Interacción entre los factores raza y edad del ovino.

$\beta(C)$ = Efecto producido por la covariable (valor de la variable respuesta medida antes de la esquila).

ε_{ijk} = Error experimental.

A los datos obtenidos se les verificó los supuestos de un ANOVA para luego ser sometidos a una prueba de comparación múltiple LSD Fisher para determinar diferencias significativas entre los tratamientos, utilizando un nivel de significancia del 5% (P-valor <0,05) (Kaps y Lamberson, 2004). En caso de no cumplir con el supuesto de homogeneidad de varianzas se trabajó con modelos heterocedásticos o mediante análisis no paramétricos.

Para determinar el efecto que tiene la esquila sobre las variables indicadoras de estrés, se realizó una prueba de homogeneidad de varianzas tanto para los datos obtenidos antes y después de la esquila de manera tal que no existiesen problemas de heterocedasticidad. En aquellos casos cuyas varianzas resultaron homogéneas, se realizó una comparación de medias para datos pareados, mediante una prueba t Student, mientras que para las variables que evidenciaron heterogeneidad de varianzas, se usó la prueba de Wilcoxon para cuantificar diferencias significativas entre las medias de estos parámetros antes y después de la esquila.

Todos los análisis estadísticos se realizaron con el software Infostat versión 2018/e.

RESULTADOS

Luego de analizar los datos, se estableció que la interacción entre raza y edad no fue significativa para ninguna de las variables en estudio, por lo que se procedió a analizar los resultados obtenidos en cada variable en función a los efectos de la raza y edad, en forma independiente. Además, se pudo evaluar el efecto de los niveles de cada variable previos a la esquila sobre su respuesta posterior al manejo mediante la covariable. Las medias de las variables estudiadas obtenidas según raza y edad se presentan en los Cuadros 1 y 2. Los coeficientes y la significancia de las covariables se presentan en el Cuadro 3.

Efecto de los factores raza y edad sobre las variables estudiadas.

Indicadores Fisiológicos

La frecuencia cardiaca no presentó diferencias significativas que indiquen un efecto de la raza sobre el comportamiento de esta variable (Cuadro 1). Sin embargo, la edad si la afectó de manera significativa (Cuadro 2), en donde las ovejas sin experiencia previa presentaron en promedio 19 pulsaciones más por minuto que las ovejas con experiencia previa. Es necesario comentar que esta variable presentó problemas de heterogeneidad de varianzas por lo que se procedió a corregir esta situación mediante un modelo heterocedástico de tipo VarIdent donde el factor edad fue corregido. Por otra parte, la covariable demostró no ser significativa, obteniendo un coeficiente de regresión igual a 0,14 y un valor $P = 0,5311$ (Cuadro 3).

En cuanto a la frecuencia respiratoria, ninguno de los factores estudiados presentó diferencias significativas (Cuadro 1 y 2). Ambas razas presentaron aproximadamente 49 ciclos por minuto. En cuanto a la edad, las ovejas sin experiencia previa presentaron, en promedio, 53 ciclos por minuto y las experimentadas cerca de 46 exhalaciones por minuto, sin embargo, dicha diferencia no fue estadísticamente significativa. La covariable de la frecuencia respiratoria resultó ser altamente significativa donde por cada ciclo por minuto extra al momento previo a la esquila, independientemente de la raza y de la experiencia previa de la oveja al manejo, en promedio los ciclos por minuto post-esquila aumentaron en 0,7 exhalaciones ($P < 0,0001$), viéndose afectada esta variable producto de la frecuencia respiratoria previa al manejo (Cuadro 3).

La temperatura rectal presentó diferencias significativas atribuidas a los efectos de ambos factores (Cuadro 1 y 2), siendo la raza Merino Precoz la que obtuvo medias más altas, aunque tan solo fue 0,14 °C mayor que las ovejas Suffolk Down. De igual manera, las ovejas sin experiencia previa presentaron una media mayor que las ovejas experimentadas, con valores de $39,64 \pm 0,03$ y $39,50 \pm 0,03$ °C respectivamente, con una diferencia muy parecida al obtenido en el factor raza. La covariable también resultó ser significativa ($P < 0,05$), donde por cada unidad de temperatura en el momento pre-esquila, en promedio las mediciones posteriores al manejo aumentan en 0,98°C, independientemente de la raza y de la experiencia previa de la oveja al manejo de la esquila (Cuadro 3).

Indicadores Hematológicos

El hematocrito (%) no presentó diferencias significativas atribuibles a los factores estudiados (Cuadro 1 y 2). Por otra parte, las medias correspondientes a los factores raza y edad estuvieron alrededor de un 32%. La covariable fue altamente significativa ($P < 0,0001$), indicando que, por cada unidad porcentual de aumento del hematocrito previo al manejo de la esquila, este indicador aumenta en promedio 0,87 unidades porcentuales, independiente de la raza y de la experiencia previa de la oveja al manejo de la esquila (Cuadro 3).

En cuanto a la concentración de eritrocitos, los factores raza y edad no la afectaron significativamente (Cuadro 1 y 2). En promedio, los animales obtuvieron valores de eritrocitos cercanos a los $8,3$ y $8,2 \times 10^6 \text{ mm}^{-3}$ para los factores raza y edad respectivamente. En cuanto a la covariable, esta resultó ser altamente significativa ($P < 0,0001$), obteniéndose que, por cada unidad de concentración de eritrocitos en el momento previo a la esquila, dicha concentración aumenta en 0,84 unidades posterior a la esquila, independientemente de la raza y de la experiencia previa de la oveja al manejo de la esquila (Cuadro 3).

En relación a los linfocitos, el factor edad no resultó tener efectos significativos (Cuadro 2), sin embargo, el factor raza si los presentó ($P = 0,0075$) siendo la raza Suffolk Down la que obtuvo las medias más altas (Cuadro 1). Durante el análisis estadístico se detectó problemas de heterogeneidad de varianzas del factor raza por lo cual se procedió a corregir mediante un modelo heterocedástico de tipo VarIdent con respecto a este mismo factor. Es importante mencionar que la significancia de este factor se mantuvo tanto previo como posterior a dicha corrección. La raza Merino Precoz obtuvo una media de aproximadamente $1,13 \pm 0,09 \times 10^4 \text{ mm}^{-3}$. Las ovejas de raza Suffolk Down obtuvieron una media de $1,58 \pm 0,12 \times 10^4 \text{ mm}^{-3}$ aproximadamente. La covariable también resultó ser significativa para la concentración de linfocitos ($P = 0,0036$) indicando que, por cada unidad de concentración de aumento en las mediciones previas a la esquila, independientemente de la raza y de la experiencia previa de la oveja al manejo de la esquila, las mediciones posteriores al manejo aumentaron en promedio $0,39 \text{ mm}^{-3}$ (Cuadro 3).

Con respecto a la concentración de neutrófilos ninguno de los factores estudiados tuvo efectos estadísticamente significativos (Cuadro 1 y 2). Los valores de medias dentro del factor raza fueron $7,87 \pm 0,71 \times 10^4 \text{ mm}^{-3}$ para la raza Merino Precoz y $8,62 \pm 0,69 \times 10^4 \text{ mm}^{-3}$ para la raza Suffolk Down. Para el factor edad las medias de ovejas sin experiencia previa y con experiencia previa resultaron $7,39 \pm 0,70 \times 10^4 \text{ mm}^{-3}$ y $9,11 \pm 0,66 \times 10^4 \text{ mm}^{-3}$ respectivamente. Por otro lado, la covariable resultó ser significativa ($P < 0,05$); indicando que por cada mm^{-3} extra en el momento previo a la esquila, aumentó en promedio $0,59 \text{ mm}^{-3}$, posterior al manejo independiente de la raza y de la experiencia previa al manejo de la esquila (Cuadro 3).

Al realizar el análisis de la relación Neutrófilos:Linfocitos, se detectó problemas de heterogeneidad de varianzas en ambos factores estudiados, por lo que se procedió a corregir mediante un modelo heterocedástico de tipo VarIdent los efectos de ambos factores. Posterior a esto, se observó que la raza no tuvo efecto sobre esta variable (Cuadro 1), no obstante, la edad si tuvo ($P = 0,0036$).

Las ovejas con experiencia previa presentaron la media más alta respecto de las ovejas de primera esquila con valores de $0,83 \pm 0,09$ y $0,50 \pm 0,06$ respectivamente (Cuadro 2). Además, la covariable también fue significativa ($P=0,0132$), lo que se traduce en que por cada unidad que aumente esta relación antes de la esquila, en promedio aumentará en 0,37 unidades posterior a la esquila independiente de la raza y de la experiencia previa al manejo de la esquila (Cuadro 3).

Indicadores Bioquímicos

El único indicador bioquímico estudiado fue la glicemia, en donde el factor edad no tuvo efectos significativos (Cuadro 2). Se determinó que hubo problemas con el supuesto de homogeneidad de varianzas especialmente con el factor edad por lo que se procedió a corregir mediante un modelo heterocedástico de tipo VarIdent aplicado a dicho factor. En cuanto a la raza, hubo diferencias significativas ($P=0,0275$) donde la raza Merino Precoz tuvo las medias más altas, siendo $12,26 \text{ mg dL}^{-1}$ mayor que la media de la raza Suffolk Down (Cuadro 1). La covariable para la glicemia no resultó ser significativa ($P=0,3625$), con un coeficiente de 0,09. Esto implica que en este estudio no hubo un efecto de la concentración previa de glucosa en la sangre sobre el contenido final obtenido inmediatamente después de aplicado el manejo.

Indicadores Endocrinos

El indicador endocrino medido fue el cortisol sérico el cual no presentó diferencias significativas atribuidas a los factores estudiados (Cuadro 1 y 2). Las ovejas de raza Merino Precoz tuvieron una media de $60,28 \pm 2,72 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ versus la raza Suffolk Down que tuvo $58,61 \pm 2,74 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$. En cuanto a las edades, las ovejas de primera esquila obtuvieron $59,63 \pm 2,70 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ y las ovejas con experiencia previa $59,25 \pm 2,82 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$. La covariable correspondiente a esta variable tuvo un efecto significativo ($P < 0,0001$), indicando que por cada unidad de cortisol medida antes de la esquila, esta variable aumenta en promedio en post-esquila $0,84 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ independiente de la raza y de la experiencia previa al manejo de la esquila (Cuadro 3).

Cuadro 1. Efecto de la raza de la oveja sobre variables Fisiológicas, Hematológicas, Bioquímicas y Endocrinas posterior a la esquila. Valores medios \pm error estándar.

Variable	Raza de Oveja		Valor P
	Merino Precoz	Suffolk Down	
	Media	Media	
Fisiológico			
Frecuencia Cardíaca (latidos min^{-1})	82,15 \pm 5,18 ^a	87,42 \pm 5,02 ^a	0,4685
Frecuencia Respiratoria (exhalaciones min^{-1})	49,76 \pm 2,58 ^a	49,11 \pm 2,53 ^a	0,8581
Temperatura rectal ($^{\circ}\text{C}$)	39,64 \pm 0,03 ^a	39,50 \pm 0,03 ^b	0,0015
Hematológico			
Hematocrito (%)	32,26 \pm 0,43 ^a	32,59 \pm 0,42 ^a	0,6260
Eritrocitos ($\times 10^6 \text{ mm}^{-3}$)	8,20 \pm 0,09 ^a	8,33 \pm 0,09 ^a	0,3316
Linfocitos ($\times 10^4 \text{ mm}^{-3}$)	1,13 \pm 0,09 ^a	1,58 \pm 0,12 ^b	0,0075
Neutrófilos ($\times 10^3 \text{ mm}^{-3}$)	7,87 \pm 0,71 ^a	8,62 \pm 0,69 ^a	0,4586
Relación N:L	0,73 \pm 0,09 ^a	0,61 \pm 0,05 ^a	0,2872
Bioquímico			
Glicemia (mg dL^{-1})	77,00 \pm 3,83 ^a	64,74 \pm 3,80 ^b	0,0275
Endocrino			
Cortisol ($\mu\text{g L}^{-1}$)	60,28 \pm 2,72 ^a	58,61 \pm 2,74 ^a	0,8102

Letras minúsculas diferentes en sentido horizontal indican diferencias significativas ($P < 0,05$)

Cuadro 2. Efecto de la edad de la oveja sobre variables Fisiológicas, Hematológicas, Bioquímicas y Endocrinas posterior a la esquila. Valores medios \pm error estándar.

Variable	Edad de Ovejas		Valor P
	Sin Experiencia Previa	Con Experiencia Previa	
	Media	Media	
Fisiológico			
Frecuencia Cardíaca (latidos min⁻¹)	94,13 \pm 6,64^a	75,45 \pm 2,93^b	0,0136
Frecuencia Respiratoria (exhalaciones min ⁻¹)	52,68 \pm 2,63 ^a	46,19 \pm 2,58 ^a	0,0817
Temperatura rectal (°C)	39,64 \pm 0,03^a	39,50 \pm 0,03^b	0,0016
Hematológico			
Hematocrito (%)	32,31 \pm 0,39 ^a	32,54 \pm 0,36 ^a	0,6632
Eritrocitos (x10 ⁶ mm ⁻³)	8,27 \pm 0,09 ^a	8,26 \pm 0,08 ^a	0,9712
Linfocitos (x10 ⁴ mm ⁻³)	1,44 \pm 0,09 ^a	1,27 \pm 0,09 ^a	0,2089
Neutrófilos (x10 ³ mm ⁻³)	7,39 \pm 0,70 ^a	9,11 \pm 0,66 ^a	0,0817
Relación N:L	0,5 \pm 0,06^a	0,83 \pm 0,09^b	0,0036
Bioquímico			
Glicemia (mg dL ⁻¹)	72,09 \pm 2,56 ^a	69,65 \pm 4,78 ^a	0,6556
Endocrino			
Cortisol (μ g L ⁻¹)	59,63 \pm 2,70 ^a	59,25 \pm 2,82 ^a	0,9240

Letras minúsculas diferentes en sentido horizontal indican diferencias significativas (P<0,05)

Cuadro 3. Coeficientes y grado de significancia de las covariables analizadas en todos los animales.

Variable	Coefficiente	E.E	Valor P
Frecuencia Cardiaca (latidos min ⁻¹)	0,14	± 0,22	0,5311
Frecuencia Respiratoria (exhalaciones min ⁻¹)	0,70	± 0,14	<0,0001
Temperatura rectal (°C)	0,98	± 0,08	<0,0001
Hematocrito (%)	0,87	± 0,10	<0,0001
Eritrocitos (mm ⁻³)	0,84	± 0,10	<0,0001
Linfocitos (mm ⁻³)	0,39	± 0,13	0,0036
Neutrófilos (mm ⁻³)	0,59	± 0,12	<0,0001
Relación N:L	0,37	± 0,14	0,0132
Glicemia (mg dL ⁻¹)	0,09	± 0,10	0,3625
Cortisol (µg L ⁻¹)	0,84	± 0,14	<0,0001

Indicadores Conductuales

Las variables medidas en este ítem se analizaron mediante análisis no paramétricos con la prueba de Kruskal-Wallis, donde se separaron según la variable a analizar (vocalizaciones e intentos de escape), resultados que se presentan en el cuadro 4.

Cuadro 4. Medias de las variables conductuales vocalizaciones e intentos de escape según raza y edad.

Variable	Raza	Edad	Medias	Valor P
Vocalizaciones	Merino Precoz	Con experiencia	4,14±15,5 ^a	0,1677
	Merino Precoz	Sin experiencia	0,85±1,14 ^a	
	Suffolk Down	Con experiencia	0,14±0,36 ^a	
	Suffolk Down	Sin experiencia	0,36±0,63 ^a	
Intentos de escape	Merino Precoz	Con experiencia	0,71±1,14 ^{ab}	0,0288
	Merino Precoz	Sin experiencia	1,08±1,19 ^{ab}	
	Suffolk Down	Con experiencia	0,43±1,16^a	
	Suffolk Down	Sin experiencia	2,00±2,08^b	

Letras minúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias significativas (P<0,05) entre tratamientos para cada variable

Las vocalizaciones no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos, así como tampoco se observó una interacción de los factores estudiados.

Por otro lado, los intentos de escape presentaron diferencias solamente en la raza de ovejas Suffolk Down ($P=0,0288$), en la cual las ovejas sin experiencia de esquila obtuvieron la media más alta ($2,00\pm 2,08$ intentos de escape), respecto de ovejas con experiencia previa al manejo ($0,43\pm 1,16$ intentos de escape). Los tratamientos asociados a ovejas Merino Precoz, resultaron ser estadísticamente similares en las variables conductuales mencionadas anteriormente.

Efecto de la esquila sobre las variables estudiadas.

Los efectos del manejo de la esquila fueron evaluados mediante una prueba t student para datos pareados o una prueba de Wilcoxon en el caso de las variables que presentaban heterogeneidad de varianzas. Los resultados de las medias de las variables y la significancia obtenidos para las covariables se presentan en el Cuadro 5. La relación cuantitativa entre ambos grupos de valores puede ser consultada en el Apéndice 1.

Indicadores Fisiológicos

Para la frecuencia cardiaca, la esquila resultó ser un manejo capaz de alterar su comportamiento. La media de pulsaciones por minuto aumentó $12,75$ latidos min^{-1} por efecto de la esquila con un valor $P=0,0031$ (Cuadro 5). Esta variable presentó problemas de heterocedasticidad por lo que analizó mediante la prueba de Wilcoxon para muestras pareadas.

Cuadro 5. Diferencias de promedios obtenidos en las variables fisiológicas, hematológicas, bioquímicas, endocrinas y conductuales de ovejas suffolk y merino precoz, medidas antes e inmediatamente después de ser esquiladas. Promedios \pm desviación estándar y grados significancia de la diferencia de las medias ($P<0,05$).

Variable	Media antes	Media después	Diferencia	DE (Diferencia)	Valor P
Frecuencia cardiaca (latidos min^{-1})	71,89	84,64	12,75	$\pm 28,29$	0,0031
Frecuencia respiratoria (exhalaciones min^{-1})	50,24	49,40	0,84	$\pm 13,82$	0,6553
Temperatura rectal ($^{\circ}\text{C}$)	39,14	39,57	0,43	$\pm 0,19$	<0,0001
Hematocrito (%)	32,2	32,42	0,22	$\pm 1,88$	0,4082
Eritrocitos ($\times 10^6 \text{ mm}^{-3}$)	8,30	8,26	0,04	$\pm 0,43$	0,5100
Linfocitos ($\times 10^4 \text{ mm}^{-3}$)	1,45	1,35	0,1	$\pm 0,55$	0,2038
Neutrófilos ($\times 10^3 \text{ mm}^{-3}$)	8,94	8,28	0,66	$\pm 3,81$	0,2181
Relación N:L	0,63	0,67	0,04	$\pm 0,41$	0,6937
Glicemia (mg dL^{-1})	59,78	70,80	11,02	$\pm 26,84$	0,0036
Cortisol ($\mu\text{g L}^{-1}$)	23,53	59,57	36,04	$\pm 13,31$	<0,0001
Vocalizaciones	0,45	1,38	0,93	$\pm 4,88$	<0,0001
Intentos de escape	1,07	1,05	0,02	$\pm 2,05$	0,9478

La frecuencia respiratoria presentó diferencias entre las medias de exhalaciones por minuto medidas antes y después del manejo, sin embargo, estas diferencias no son suficientes para determinar un efecto significativo sobre el comportamiento de esta variable ($P=0,6553$). Si bien la media fue diferente y menor después de la esquila, esta diferencia no fue estadísticamente diferente de cero (Cuadro 5).

El manejo de la esquila, para la temperatura rectal, si demostró tener un efecto significativo ($P<0,0001$), aumentando las medias de temperatura inmediatamente posterior al manejo en $0,43^{\circ}\text{C}$ (Cuadro 5).

Indicadores Hematológicos

El efecto de la esquila sobre el hematocrito no fue significativo ($P=0,4082$), indicando que, el hecho de que el porcentaje de hematocrito haya aumentado de 32,20% a 32,42% después de la esquila, no fue por efecto del manejo, sino que por efecto del azar (Cuadro 5).

En cuanto a los eritrocitos, la esquila resultó ser no significativa ($P=0,5100$), obteniéndose como resultado que el manejo no afecta el comportamiento de esa variable aun existiendo una pequeña diferencia entre las medias obtenidas, ya que esta diferencia es producto del azar (Cuadro 5).

Para los linfocitos, la media de concentración disminuyó de $1,45 \times 10^4 \text{ mm}^{-3}$ antes de la esquila a $1,35 \times 10^4 \text{ mm}^{-3}$ después de la esquila, sin embargo, esta diferencia no resultó ser significativa ($P=0,2038$), indicando que, en este estudio no existe un efecto de la esquila sobre esta variable (Cuadro 5).

En cuanto al efecto de la esquila sobre la concentración de neutrófilos, no hubo un efecto significativo ($P=0,2181$). Las medias antes y después del manejo fueron de $8,94 \times 10^3 \text{ mm}^{-3}$ y $8,28 \times 10^3 \text{ mm}^{-3}$ respectivamente, sin embargo, esta diferencia no resultó ser significativa (Cuadro 5).

El efecto de la esquila sobre la relación Neutrófilos:Linfocitos tampoco fue significativa ($P=0,6937$), lo que se traduce en que esta variable no se afecta por el manejo aplicado. La media después del manejo fue 0,04 unidades mayor respecto de la medición realizada previamente, pero la diferencia observada fue producto del azar (Cuadro 5).

Indicadores Bioquímicos

Para la glicemia, la esquila si resultó ser un manejo capaz de alterar sus concentraciones ($P=0,0036$), de manera tal que se observó un aumento de $59,78 \text{ mg dL}^{-1}$ antes de la esquila a $70,80 \text{ mg dL}^{-1}$ inmediatamente después de terminada la labor, dejando una diferencia de casi 11 mg dL^{-1} (Cuadro 5).

Indicadores Endocrinos

La variable cortisol fue afectada significativamente por el manejo de la esquila ($P < 0,0001$). La media obtenida antes del manejo fue de $23,53 \mu\text{g L}^{-1}$ y la media correspondiente a las mediciones realizadas inmediatamente después de realizado el procedimiento fue de $59,57 \mu\text{g L}^{-1}$, lo que se traduce en un incremento de cerca de $36 \mu\text{g L}^{-1}$ atribuible al efecto de la esquila (Cuadro 5).

Indicadores Conductuales

La esquila afectó significativamente las vocalizaciones ($P < 0,0001$) de manera tal que se produjo un aumento de 0,45 vocalizaciones en promedio antes de la esquila a 1,38 vocalizaciones promedio posterior al manejo (Cuadro 5).

Por otra parte, los intentos de escape no presentaron un efecto significativo de la esquila ($P = 0,9478$) donde hubo una pequeña variación en las medias obtenidas antes y después de la esquila siendo 1,07 a 1,05 intentos de huida respectivamente (Cuadro 5).

DISCUSIÓN

El objetivo de este estudio era describir el efecto de la esquila sobre indicadores de bienestar animal y el efecto de la raza y la experiencia previa a este manejo sobre dichos indicadores. Como consecuencia de la esquila la frecuencia cardiaca se vio afectada por la experiencia previa de la oveja siendo mayor en ovejas no experimentadas. Además, la frecuencia cardiaca previa a la esquila, como covariable, no tuvo efecto significativo por lo tanto el hecho de que las ovejas tengan una mayor o menor frecuencia cardiaca antes no implica un efecto en la medida de esta variable posterior a la esquila (Cuadro 3). En la figura 1 del apéndice 1 se puede observar como la pendiente de la línea de tendencia de los datos, correspondiente a la pendiente de la covariable, es muy cercana a 0 y se aleja de la pendiente de la bisectriz del gráfico, demostrando que no hubo efecto de la covariable. Por otra parte, la esquila afectó significativamente la frecuencia cardiaca (Cuadro 5) aumentando más de 12 latidos por minuto después de realizado el manejo. En la Figura 1 del Apéndice 1 se puede observar el efecto de la esquila sobre esta variable debido a que la proyección de la intersección con el eje de las ordenadas se produce en valores más altos a la intersección de la bisectriz. Esto se contrapone con lo obtenido por Piccione *et al.* (2008), quienes no observaron efecto de la esquila sobre la frecuencia cardiaca inmediatamente después del manejo, pero sí un efecto del tiempo sobre la variable y, con lo observado por Pennisi *et al.* (2004), los que obtuvieron diferencias en la frecuencia cardiaca de ovejas sometidas a esquila versus ovejas no esquiladas (evaluadas los días 0, 20, 40, 60 y 80 post-esquila) desde el día 20 en adelante. Estos resultados indicaron que las ovejas sin esquilar tenían mayor frecuencia cardiaca que las esquiladas producto de la resistencia vascular periférica, que era mayor en ovejas sin esquilar. Piccione *et al.* (2008), midieron esta variable en 1, 15, 30, 45 y 60 días posteriores a la esquila por lo que, si hubo un aumento inmediatamente posterior a la esquila, este no podría haber sido evaluado. A pesar de lo anterior, en este experimento hubo diferencias obtenidas inmediatamente después de terminada la labor; lo que es posible de explicar por el muestreo de las variables realizado antes de la esquila y por el estrés que les puede causar el hecho de presenciar toda la manipulación que se realizaba a sus compañeras, además del posible estrés previo producto del arreo de las ovejas, a diferencia de los experimentos de Pennisi *et al.* (2004) y de Piccione *et al.* (2008), que no realizaron estos manejos previos. Hargreaves y Hutson (1990), observaron un aumento de la frecuencia cardiaca inmediatamente posterior a la esquila. Piccione *et al.* (2008), encontraron una mayor respuesta en ovejas que habían experimentado esquilas previamente que ovejas sin experiencia, las diferencias con lo obtenido en este estudio se pueden explicar por la suma del estrés de la esquila, el muestreo de otros indicadores de estrés, el arreo y la novedad, condiciones que fueron distintas en ambos experimentos.

La frecuencia respiratoria no tuvo diferencias significativas por efecto de los factores estudiados. Sin embargo, la covariable fue significativa (Cuadro 3), indicando que la frecuencia cardiaca antes del manejo afecta el comportamiento de esta variable aumentando 0,70 ciclos por minuto de las ovejas posterior al manejo. Lo anterior se observa en la Figura 2 del Apéndice 1, donde la pendiente de la línea de tendencia de los datos es muy similar a la pendiente de la bisectriz del gráfico.

Con respecto a la esquila, no hubo un efecto significativo del manejo sobre la frecuencia respiratoria (Cuadro 5 y Figura 2 del Apéndice 1), resultados que concuerdan con los obtenidos por Pennisi *et al.* (2004) donde, sin analizar los factores raza y edad, los animales sometidos a esquila no tuvieron una respuesta diferente a animales no esquilados inmediatamente después del manejo, aunque si observaron una diferencia días después del manejo, la que se le atribuyó a un estrés térmico y un desbalance de la homeostasis. Damian y Ungerfeld (2013), indican que la respuesta de estrés produce un aumento tanto de la frecuencia cardíaca como la respiratoria por efecto de las catecolaminas liberadas por las glándulas adrenales estimuladas por la activación del sistema simpático del sistema nervioso.

Durante la toma de muestras, se evidenció que las exhalaciones posteriores a la esquila eran más profundas que las exhalaciones medidas previamente. Las exhalaciones varían en profundidad y en frecuencia como respuesta a la pérdida de calor por jadeo, es así como ovejas con estrés térmico aumentan la frecuencia respiratoria y disminuyen el volumen por respiración para poder disipar, de esa manera, mayor cantidad de calor (Silanikove, 2000; Penissi *et al.*, 2004). Por estos motivos se podría presumir que, por efecto de la liberación del vellón, los animales aumentaron el volumen de sus respiraciones para evitar la pérdida de calor por evapotranspiración, pero al no ser medidas como indicador no se pudo analizar esta variable.

Debido a esto, se puede recomendar que la frecuencia respiratoria sea medida durante un periodo más largo posterior a la esquila para poder observar su comportamiento a través del tiempo y determinar si existen diferencias significativas por efecto de la raza o la edad a largo plazo, y también analizar la profundidad o el volumen por respiración para poder determinar si la esquila o algún otro agente estresor tiene efecto sobre esta última variable.

La temperatura rectal mostró un aumento significativo por efecto de la edad y la raza de la oveja, siendo mayor en las hembras sin experiencia previa y en las ovejas de la raza Merino Precoz. Además, la covariable resultó ser altamente significativa ($P < 0,0001$) indicando que, a mayor temperatura rectal antes de la esquila, mayor será la temperatura rectal posterior al manejo (Cuadro 3). La esquila resultó tener un efecto sobre esta variable provocando un aumento de $0,43^{\circ}\text{C}$ inmediatamente después de la esquila (Cuadro 5). Tanto la significancia de la covariable como la del efecto de la esquila se ven reflejados en la Figura 3 del Apéndice 1, donde la pendiente de la línea de tendencia de los datos se ajusta de manera muy similar a la bisectriz del gráfico (efecto de la covariable) y el desplazamiento de esa recta respecto de la bisectriz refleja el efecto de la esquila. Estos resultados se contrastan a los obtenidos por Piccione *et al.* (2011) donde hubo mayor temperatura rectal posterior a la esquila, aunque no de manera significativa. Así mismo, Piccione *et al.* (2008) no obtuvieron diferencias significativas de temperatura rectal entre ovejas recién esquiladas y ovejas sin esquilar, medidas inmediatamente después del manejo. Piccione *et al.* (2002), encontraron diferencias entre ovejas no esquiladas y esquiladas donde estas últimas aumentaron en promedio 1°C su temperatura rectal, aumento que se le atribuye al estrés producido por la esquila. Además, los autores antes citados encontraron diferencias entre razas de ovejas donde el comportamiento de la variable era distinto según el tipo racial de las ovejas y según el momento del día en se realizaron las mediciones (mañana y tarde).

Curiosamente, las ovejas con un mayor espesor de vellón fueron las que mantuvieron temperaturas más altas en las mañanas durante los primeros días posteriores al manejo, lo que hace pensar que el espesor del vellón podría tener algún efecto sobre la regulación de la temperatura corporal posterior a la esquila y por lo tanto podría ser una de las razones por las que las ovejas de raza Merino Precoz presentaron una mayor temperatura rectal en comparación a las de raza Suffolk Down. Sin embargo, es necesario estudiar la posible existencia de esta relación para poder aseverar esta suposición. Otro estudio no encontró diferencias en la temperatura rectal entre ovejas sometidas o no a estrés por aislamiento (Deragón, 2016).

El hematocrito y los eritrocitos no tuvieron diferencias significativas producidas por efecto de los factores estudiados. Por otra parte, las concentraciones iniciales de estas variables, como covariables, resultaron ser altamente significativas indicando que un aumento en el hematocrito y de la concentración de eritrocitos antes de la esquila es influyente en el porcentaje de hematocrito y las concentraciones de eritrocitos después de realizada la labor (Cuadro 3). En las Figuras 4 y 5 del Apéndice 1 es posible observar como la pendiente de la línea de tendencia de los datos, al ser cercana a la bisectriz del gráfico, representa el efecto significativo de las covariables de ambos indicadores. Con respecto a la esquila, esta no tuvo un efecto significativo sobre estas variables (Cuadro 5 y Figuras 4 y 5 del Apéndice 1), lo que se condice con los resultados obtenidos por Piccione *et al.* (2008), donde no hubo diferencias en el hematocrito ni en eritrocitos entre ovejas esquiladas y ovejas sin esquilar. Los valores de hematocrito obtenidos en el presente estudio se encuentran dentro del rango normal descrito para ovejas, el que según Byers y Kramer (2011), varía entre 27-45%. Por otro lado, los datos obtenidos en la concentración de eritrocitos se encuentran levemente por debajo de los rangos establecidos por Byers and Kramer (2011), pero concuerdan con los valores obtenidos por Piccione *et al.* (2008). Piedrafito y Manteca (2002) indican que existen diferencias en las variables fisiológicas medidas que se pueden atribuir al genotipo y a la experiencia previa, contrastando con lo obtenido en este estudio. Las diferencias se pueden atribuir a las diferencias en la metodología y condiciones de los experimentos.

Los linfocitos se encuentran por encima de los parámetros definidos como normales por Byers and Kramer (2011) y los parámetros descritos por Avellanet *et al.* (2007) para la raza ovina Xisqueta. Además, también se encuentran por encima de los valores encontrados por Paull *et al.* (2008), en ovejas sometidas a “Mulesing”. Esto nos podría indicar que las ovejas pasaban por algún cuadro infeccioso el cual produjo un aumento de los niveles de linfocitos circulantes. Aun así, es posible notar que existe una diferencia significativa en las medias de ovejas de la raza Merino Precoz y Suffolk Down donde estas últimas son las que tienen las medias más altas. Un cuadro de estrés es capaz de reducir los niveles de linfocitos (linfopenia) (Tornquist y Rigas, 2011; Damian y Ungerfeld, 2013) debido a que altera la respuesta inmunológica, en este sentido se podría inferir que, aun habiendo un alto nivel de linfocitos en la sangre, el hecho de que la raza Merino Precoz tenga medias menores es por efecto de una mayor respuesta de esta raza frente al estresor que es el manejo de la esquila. Por otra parte, la covariable resultó ser significativa (Cuadro 3) lo cual indicaría que a medida que las ovejas tengan mayores concentraciones de linfocitos antes de la esquila, van a tener en promedio 0,39 unidades de concentración más después del manejo. La esquila no presentó un efecto significativo sobre esta variable (Cuadro 5), aun cuando se observó una media menor posterior a la esquila, esta diferencia solo fue producto del azar.

En la Figura 6 del Apéndice 1 se puede observar que la pendiente de los datos es cercana a la bisectriz del gráfico, lo que indica el efecto de la covariable sobre el comportamiento de esta variable, sin embargo, la proyección de dicha línea de tendencia no es muy diferente del origen, lo que indica que no hubo efecto de la esquila sobre la concentración de linfocitos.

Estas últimas afirmaciones son difíciles de fundamentar debido al alto nivel de concentración de linfocitos por sobre los índices de normalidad descritos para ovejas, esto da pie a que exista la posibilidad de que los resultados obtenidos se hayan producido por efectos no contemplados en este experimento como podría ser una posible infección del rebaño de estudio.

En cuanto a los neutrófilos, se observó que la raza y la experiencia previa no afectaron significativamente el comportamiento de la variable, pero sí lo hizo la concentración inicial de neutrófilos previo a la esquila, lo que afectó significativamente la concentración de neutrófilos medidos inmediatamente después de la esquila (Cuadro 3). La esquila, no presentó un efecto significativo sobre esta variable (Cuadro 5), lo que se contrapone con los datos obtenidos por Colditz *et al.* 2005; Paull *et al.* 2008; Paull *et al.* 2009 y Doyle *et al.* 2010, donde ovejas sometidas a distintos tipos de estrés aumentaron sus concentraciones de neutrófilos. Por otro lado, Sanger *et al.* (2011) obtuvieron una disminución de los neutrófilos en ovejas sometidas a esquila a lo que no pudieron atribuirle una razón. En este estudio, se pudo observar una menor contracción de neutrófilos posterior a la esquila, pero esa diferencia no resultó ser significativa. Es conocido que rumiantes en condiciones estresantes aumentan sus niveles de neutrófilos como una respuesta a este estímulo por efecto de corticosteroides que generan una demarginación de neutrófilos en los vasos sanguíneos y aceleran la liberación de neutrófilos desde la médula ósea hacia la sangre y el efecto de la liberación de epinefrina (Tornquist y Rigas, 2011).

La relación Neutrófilos:Linfocitos (N:L) sufrió una variación por efecto de la experiencia previa, siendo las ovejas con experiencia anterior las más afectadas. Esto podría indicar una mayor respuesta de estrés por parte de este grupo de ovejas. La covariable también resultó ser significativa (Cuadro 3), lo que indica que a mayor relación N:L antes de la esquila, esta relación será mayor posterior al manejo independientemente de la raza o de la edad de la oveja. Lo anterior es posible de observar en la Figura 8 del Apéndice 1, donde la pendiente de la línea de tendencia de los datos se aproxima bastante a la pendiente de la bisectriz del gráfico, lo que indica la relación significativa de la relación N:L antes de la esquila y dicha relación después del manejo. El efecto de la esquila no fue significativo sobre la relación N:L (Cuadro 5 y Figura 8 de Apéndice 1), contraponiéndose con lo expuesto en la literatura que indica que la esquila es un evento estresante y que ante una situación de esa índole, las ovejas presentan un aumento de la relación N:L, así como lo indican Tornquist y Rigas (2011). Además, Paull *et al.* (2008) y Paull *et al.* (2009), encontraron un aumento de esta relación en ovinos sometidos a distintos manejos estresantes como el “mulesing” y la castración. En el caso de estos estudios, estos manejos implican aún más estrés porque van ligados a mucho dolor, distinto a lo que ocurre con la esquila que no debiese ser dolorosa. A pesar de lo anterior, en este experimento hubo un leve aumento de la relación N:L posterior a la esquila pero que no fue significativa por lo que nace la interrogante de qué habría ocurrido si hubiese existido un mayor tiempo de muestreo.

Por otro lado, Sanger *et al.* (2011) observaron una disminución de esta variable, aun esperando que aumentara sin poder explicar estos resultados, aspecto que se podría atribuir a diferencias en la metodología del experimento, de las condiciones en general del experimento o incluso a errores experimentales.

Todas las variables analizadas mediante el hemograma no fueron afectadas significativamente por la esquila, lo que podría sugerir la existencia de algún factor en común capaz de alterar estos resultados. Por esto, se sugiere que un experimento con un mayor tiempo de estudio o mayor número de animales podría tener resultados diferentes.

La glicemia en rumiantes es bastante estable por efecto de una constante gluconeogénesis, lo que ayuda a la regulación de esta por parte de la insulina, a diferencia de los monogástricos en los que las concentraciones de glicemia son muy variables durante el día y la ingesta de alimentos (Relling y Mattioli, 2003). Por lo anterior, la glicemia es un buen indicador de estrés porque como es tan estable, la variación de glicemia es atribuible a la liberación de cortisol (Chacón *et al.* 2006). Por tanto, el aumento de glicemia en ovejas de raza Merino Precoz podría ser atribuida a una mayor respuesta de estrés por parte de este grupo de animales. Además, Relling y Mattioli (2003) afirman que los rumiantes tienen un rango de glicemia que va desde los 40 a 60 mg dL⁻¹, al que se acercan las ovejas de raza Suffolk Down con 64,74 mg dL⁻¹ versus las ovejas Merino Precoz que evidenciaron un aumento a 77,00 mg dL⁻¹ de glicemia. En este estudio, la glicemia post esquila no presentó un efecto significativo de su valor inicial, como covariable (Cuadro 3), por lo que se podría afirmar que la concentración inicial de glicemia no afecta su contenido posterior al manejo de la esquila. Además, en la Figura 9 del Apéndice 1, se observa cómo la pendiente de la línea de tendencia de los datos es completamente diferente a la pendiente de la bisectriz, graficando el nulo efecto de la covariable sobre la glicemia. Por otra parte, sí hubo un efecto de la esquila sobre la glicemia (Cuadro 5), produciéndose un aumento de 11 mg dL⁻¹, este resultado es el esperado según la información obtenida en la literatura, el aumento de la glicemia, en situaciones de estrés, se produce por el aumento del cortisol y su acción sobre procesos de catabolismo de proteínas, lípidos y gluconeogénesis (Damian y Ungerfeld, 2013). El efecto de la esquila se puede observar en la Figura 9 del Apéndice 1, donde se puede apreciar el desplazamiento de la recta correspondiente a la línea de tendencia de los datos respecto de la bisectriz del gráfico.

El cortisol no mostró ser afectado por ninguno de los factores estudiados. Estos resultados contrastan con los obtenidos por Mears *et al.* (1999) y Fazio *et al.* (2016), donde encontraron diferencias en las medias de cortisol por efecto de la experiencia previa al manejo, es decir, experiencias de esquilas anteriores no contribuye con una habituación al manejo, sino que provocaría una mayor y más temprana liberación de hormonas como ACTH (hormona adrenocorticotrópica) y cortisol. Por otro lado, el nivel de cortisol antes de la esquila, como covariable, sí fue significativo indicando que, a por cada unidad de aumento de cortisol sérico antes de la esquila, habrá mayor cantidad después de la esquila (Cuadro 3).

Además, la esquila tuvo un efecto significativo sobre el comportamiento de esta variable (Cuadro 5), provocando un aumento de cerca de $36 \mu\text{g L}^{-1}$ después de la esquila. Estos resultados se pueden observar en la Figura 10 del Apéndice 1, donde se observa que la pendiente de la línea de tendencia de los datos es similar a la pendiente de la bisectriz del gráfico, lo que representa gráficamente el efecto de la covariable sobre el comportamiento de esta variable. Con respecto al efecto de la esquila, el desplazamiento de la recta correspondiente a la línea de tendencia respecto de la bisectriz del gráfico refleja el efecto de la esquila sobre este indicador de estrés. Hargreaves y Hutson (1990) y Fazio *et al.* (2016) obtuvieron resultados similares en los que tanto machos como hembras presentaron mayores medias de cortisol luego de ser sometidas a esquila, independientemente de su experiencia previa.

Con respecto a las variables conductuales, las vocalizaciones no presentaron diferencias significativas por efecto de la raza y la edad de la oveja, pero si hubo efecto de la esquila (Cuadro 5), produciendo un incremento, desde 0,45 vocalizaciones, antes de la esquila, a 1,38 vocalizaciones posterior al manejo. A diferencia de las vocalizaciones, la esquila no afectó significativamente los intentos de escape (Cuadro 5). Sin embargo, esta variable sufrió una variación por efecto de la experiencia previa dentro de la raza Suffolk Down.

No se podría indicar con certeza que las ovejas sin experiencia anterior son las que presentaron mayor cantidad de intentos de escape debido a que ambos grupos de edad de la raza merino y las ovejas con experiencia previa de la raza Suffolk Down mostraron una respuesta estadísticamente similar (Cuadro 5). Dodd *et al.* (2012) postulan que la raza produce diferencias en el comportamiento de las ovejas en conductas como aversión a los humanos, mayor zona de fuga, habilidad materna, entre otros. Además, indican que animales sin experiencia frente a ciertos estímulos muestran más conductas de miedo en comparación a animales que ya han sido sometidos a ellos. Esto se contradice con lo propuesto por Mears *et al.* (1999) y Fazio *et al.* (2016) quienes observaron que ovejas con más experiencia aumentaban sus niveles de cortisol y otras variables que determinan estrés. Lo anterior hace pensar en una disociación entre la respuesta fisiológica de las ovejas y la respuesta conductual. Esta posible diferenciación podría explicar el comportamiento de las variables en este estudio donde las ovejas de raza Merino Precoz sufrieron y evidenciaron una respuesta fisiológica mayor de estrés que las ovejas Suffolk Down y las ovejas con mayor experiencia frente al manejo de la esquila, se estresan más que las ovejas sin experiencia. La explicación de esto último podría ser malas experiencias anteriores o un mecanismo de coping de la respuesta fisiológica que resulta en mayores y más tempranas evidencias de estrés.

Los resultados obtenidos en este estudio también podrían indicar que el temperamento de las ovejas se ve afectado por su reactividad. En este sentido, tanto Le Neindre *et al.* (1993) como Dodd *et al.* (2012) concuerdan en que existe una relación entre el genotipo y a reactividad del temperamento de ovejas, frente a la presencia de humanos. Por esto se pueden interpretar los resultados obtenidos indicando que la raza Suffolk Down es más proactiva, es decir, muestra menos signos de estrés fisiológicos, pero más conductas relacionadas a esta condición y la raza Merino Precoz es más reactiva, es decir, presenta más alteraciones fisiológicas y menos conductas propias de un estado de estrés.

CONCLUSIONES

Las ovejas de la raza Merino Precoz son las que ven más alterada su respuesta frente al estrés que les significa la esquila, lo que se refleja en un aumento de temperatura rectal, disminución de los linfocitos y aumento en la glicemia.

Las ovejas sin experiencia previa al manejo de la esquila en general ven alteradas la frecuencia cardíaca y la temperatura rectal, no así en la relación Neutrófilos:Linfocitos, donde las ovejas experimentadas fueron las que resultaron más afectadas.

La raza no es un factor relevante para los indicadores conductuales, mientras que la experiencia previa, solo lo es en la raza Suffolk Down sobre los intentos de escape.

El efecto del manejo de la esquila sobre las variables frecuencia cardíaca, glicemia, cortisol y vocalizaciones, indica que la esquila si es un manejo estresante para las ovejas.

LITERATURA CITADA

- Avellanet, R., R. Cuenca, J. Pastor, & J. Jordana. 2007. Parámetros hematológicos y bioquímico clínicos en la raza ovina Xisqueta. *Archivos de Zootecnia*, 56(Su1).
- Broom, D. M. 1986. Indicators of poor welfare. *British veterinary journal*, 142(6), 524-526.
- Byers, S. R. and J. W. Kramer. 2011. Normal Hematology of Sheep and Goats. P. 836-842. *In: Weiss, D. J. and K. J. Wardrop (Eds.) Schalm's Veterinary Hematology. Sixth Edition. John Wiley and Sons. Ames, Iowa, USA.*
- Carcangiu, V., G. M. Vacca, A. Parmeggiani, M. C. Mura, M. Pazzola, M. L. Dettori, & P. P. Bini. 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.
- Chacón, T. C., H. Zerpa, F. J. Cova & G. J. Campos. 2006. Efecto del estrés asociado al destete sobre variables Clínico-Patológicas y la integridad de la mucosa gástrica en Potros Pura Sangre de Carrera. *Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias*, 47(2), 79-91.
- Colditz, I. G., S. W. Walkden-Brown, B. L. Daly & B. J. Crook. 2005. Some physiological responses associated with reduced wool growth during blowfly strike in Merino sheep. *Australian Veterinary Journal*, 83(11), 695-699.
- Damian, J.P., y R. Ungerfeld. 2013. Indicadores de bienestar animal en especies productivas: una revisión crítica. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, 21, 103-113.
- Deragón, C. 2016. Estrés del aislamiento social en corderos criados artificialmente o con sus madres durante la lactancia. 30 p. Tesis Doctorado. Universidad de la República, Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay.
- DeVries, A. C., E. R. Glasper & C. E. Detillion. 2003. Social modulation of stress responses. *Physiology & Behavior*, 79, 399-407.
- Dodd, C. L., W. S. Pitchford, J. E. H. Edwards & S. J. Hazel. 2012. Measures of behavioural reactivity and their relationships with production traits in sheep: a review. *Applied Animal Behaviour Science*, 140(1-2), 1-15.
- Domínguez Leiva, B. E. 2013. Estudio descriptivo sobre la esquila en ovinos y su repercusión en bienestar animal y en la manipulación de la lana en las regiones Metropolitana, del Libertador General Bernardo O'higgins, de los Lagos y de los Ríos. [En línea]. Memoria Médico Veterinario. Santiago de Chile: Departamento de Fomento a la Producción, Universidad de Chile. 74 p. Recuperado en: <[http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/131581/Estudio-descriptivo-sobre-la-esquila-en-ovinos-y-su-repercusion-en-bienestar-animal-y-en-la-manipulacion-de-la-lana-](http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/131581/Estudio-descriptivo-sobre-la-esquila-en-ovinos-y-su-repercusion-en-bienestar-animal-y-en-la-manipulacion-de-la-lana)

- en-las-regiones-Metropolitana-del-Libertador-General-Bernardo-Ohiggins-de-los-Lagos-y-de-los-Rios.pdf?sequence=1 >. Consultado el: 20 de junio de 2017
- Doyle, R. E., A. D. Fisher, G. N. Hinch, A. Boissy & C. Lee. 2010. Release from restraint generates a positive judgement bias in sheep. *Applied Animal Behaviour Science*, 122(1), 28-34.
- Dwyer, C. 2008. The management of sheep. P. 291-323. *In*: Dwyer C.M. *The Welfare of Sheep*. Vol. 6. Springer. Edinburgh, United Kingdom.
- Fazio, E. F. E., P. Medica, C. Cravana, & A. Ferlazzo. 2016. Pituitary-adrenal axis responses to routine management procedures in sheep (*Ovis aries*). *Acta Scientiae Veterinariae*, 44, 1-7.
- Grandin, T. 1997. Evaluación del estrés durante el manejo y transporte. *Journal of Animal Science*, 75, 249-257.
- Hargreaves, A. L., & G. D. Hutson. 1990. Changes in heart rate, plasma cortisol and haematocrit of sheep during a shearing procedure. *Applied Animal Behaviour Science*, 26(1-2), 91-101.
- Hutson, G. D. 1985. The influence of barley food rewards on sheep movement through a handling system. *Applied Animal Behaviour Science*, 14(3), 263-273.
- Kaps, M., & W. Lamberson. 2004. *Biostatistics for animal science*. 445 p.
- Le Neindre, P., P. Poindron, G. Trillat & P. Orgeur. 1993. Influence of breed on reactivity of sheep to humans. *Genetics Selection Evolution*, 25(5), 447.
- Manteca X. 2004. Actas del Seminario: La Institucionalización del Bienestar Animal, un Requisito para su Desarrollo Normativo, Científico y Productivo. Conferencia: Tendencias de la Investigación Científica en Bienestar Animal. p: 29, 31, 36, 38,39.
- Mears, G. J., F. A. Brown, & L. R. Redmond. 1999. Effects of handling, shearing and previous exposure to shearing on cortisol and β -endorphin responses in ewes. *Canadian Journal of Animal Science*, 79(1), 35-38.
- Meza-Herrera, C. A., J. A. Bocanegra-Viezca, R. Bañuelos-Valenzuela, C. F. Aréchiga-Flores, R. M. Rincón-Delgado & R. Rodríguez-Martínez. 2002. Fluctuación de los niveles séricos de cortisol y glucosa como indicadores de estrés en seis genotipos caprinos durante cuatro épocas del año. *Chapingo*, 1, 47-52.
- Moberg, G. P., & Mench, J. A. (Eds.). 2000. *The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare*. CABI. California, USA.

- Paull, D. R., C. Lee, S. J. Atkinson & A. D. Fisher. 2008. Effects of meloxicam or tolfenamic acid administration on the pain and stress responses of Merino lambs to mulesing. *Australian veterinary journal*, 86(8), 303-311.
- Paull, D. R., C. Lee, I. G. Colditz & A. D. Fisher. 2009. Effects of a topical anaesthetic formulation and systemic carprofen, given singly or in combination, on the cortisol and behavioural responses of Merino lambs to castration. *Australian veterinary journal*, 87(6), 230-237.
- Pennisi, P., Costa, A., Biondi, L., Avondo, M., & Piccione, G. 2004. Influence of the fleece on thermal homeostasis and on body condition in Comisana ewe lambs. *Animal Research*, 53(1), 13-19.
- Piccione, G., F. Fazio, S. Casella, P. Pennisi, & G. Caola. 2011. Influence of shearing on oxidative stress and some physiological parameters in ewes. *Animal science journal*, 82(3), 481-485.
- Piccione, G., L. Lutri, S. Casella, V. Ferrantelli, & P. Pennisi. 2008. Effect of shearing and environmental conditions on physiological mechanisms in ewes. *Journal of Environmental Biology*, 29(6), 877-880.
- Piccione, G., G. Caola, & R. Refinetti. 2002. Effect of shearing on the core body temperature of three breeds of Mediterranean sheep. *Small Ruminant Research*, 46(2-3), 211-215.
- Piedrafita, J., & X. Manteca. 2002. Mejora genética del comportamiento y del bienestar del ganado rumiante. *Revista ITEA*.
- Pordomingo, A., & A. Pordomingo. 2013. Avances en calidad de carne de ovinos: Caprinos, porcinos y aves. *Avances en bienestar animal. Implicancias de la alimentación, la genética y el manejo*. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (Argentina).
- Relling, A. E., & G. A. Mattioli. 2003. Fisiología digestiva y metabólica de los rumiantes. *Fac. Ciencias Veterinarias*. Argentina: Universidad Nacional de La Plata.
- Rossner, M. V., N. M. Aguilar & P. Koscinczuk. 2010. Bienestar animal aplicado a la producción bovina. *Revista Veterinaria*, 21(2), 151-156.
- SAG (Servicio agrícola y ganadero). [En línea]. Santiago de Chile. Recuperado en: <<http://www.sag.cl/ambitos-de-accion/bienestar-animal>>. Consultado el: 15 de junio de 2017.
- Sanger, M. E., R. E. Doyle, G. N. Hinch & C. Lee. 2011. Sheep exhibit a positive judgement bias and stress-induced hyperthermia following shearing. *Applied Animal Behaviour Science*, 131(3-4), 94-103.

Silanikove, N. 2000. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. *Livestock production science*, 67(1-2), 1-18.

Tornquist, S. and J. Rigas. 2011. Interpretation of Ruminant Leukocyte Responses. P. 307-313. *In*: Weiss, D. J. and K. J. Wardrop Schalm's Veterinary Hematology. Sixth edition. John Wiley and sons. Ames, Iowa, USA.

APÉNDICE 1

Relación entre los variables fisiológicas, hematológicas, bioquímicas, endocrinas y conductuales de ovejas suffolk y merino precoz, medidas antes e inmediatamente después de ser esquiladas.

Figura de Apéndice 1. Frecuencia Cardíaca de ovejas medidas antes e inmediatamente después de ser esquiladas

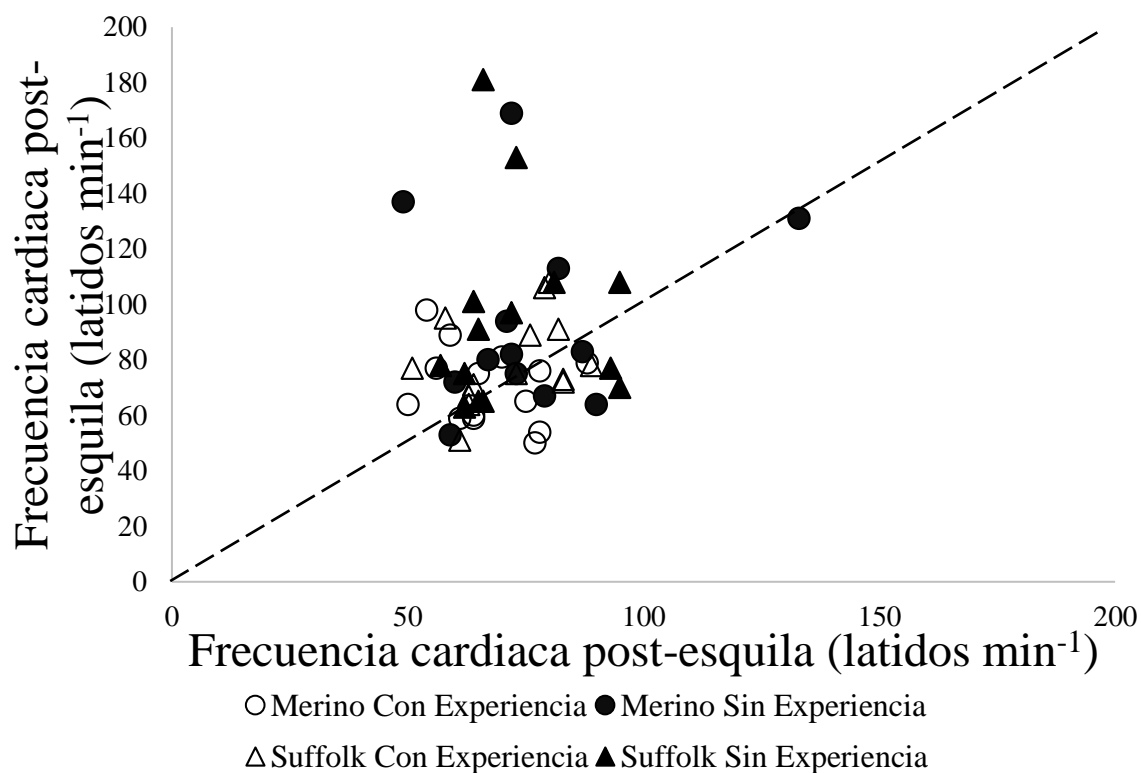


Figura de Apéndice 2. Frecuencia Respiratoria de ovejas medidas antes e inmediatamente después de ser esquiladas.

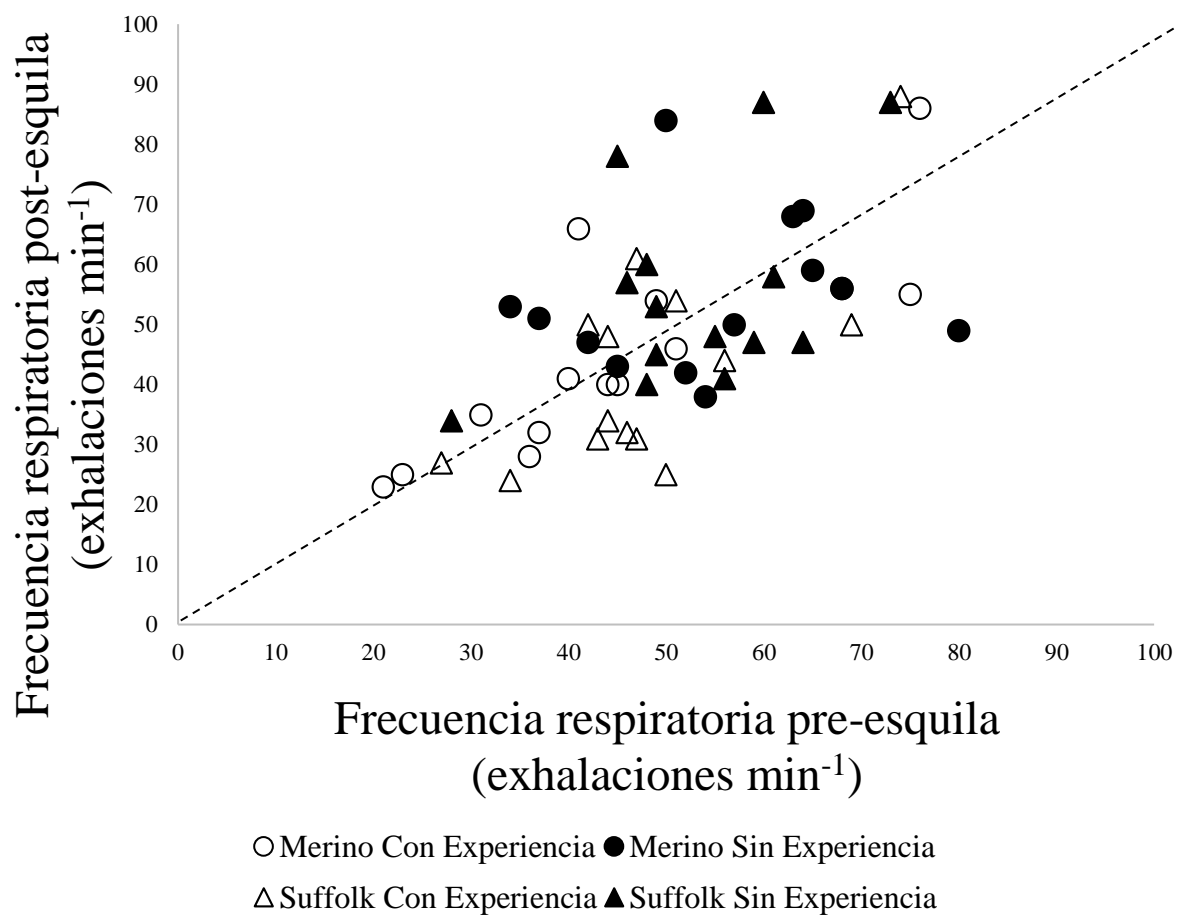
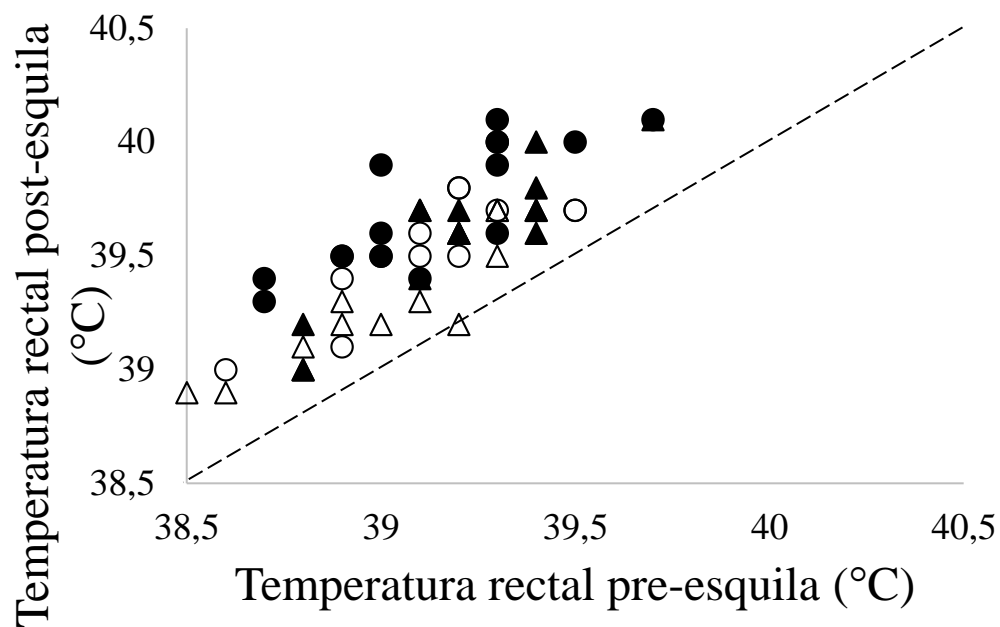


Figura de Apéndice 3. Temperatura Rectal de ovejas medidas antes e inmediatamente después de ser esquiladas.



○ Merino Con Experiencia ● Merino Sin Experiencia
 △ Suffolk Con Experiencia ▲ Suffolk Sin Experiencia

Figura de Apéndice 4. Hematocrito de ovejas medido antes e inmediatamente después de ser esquiladas.

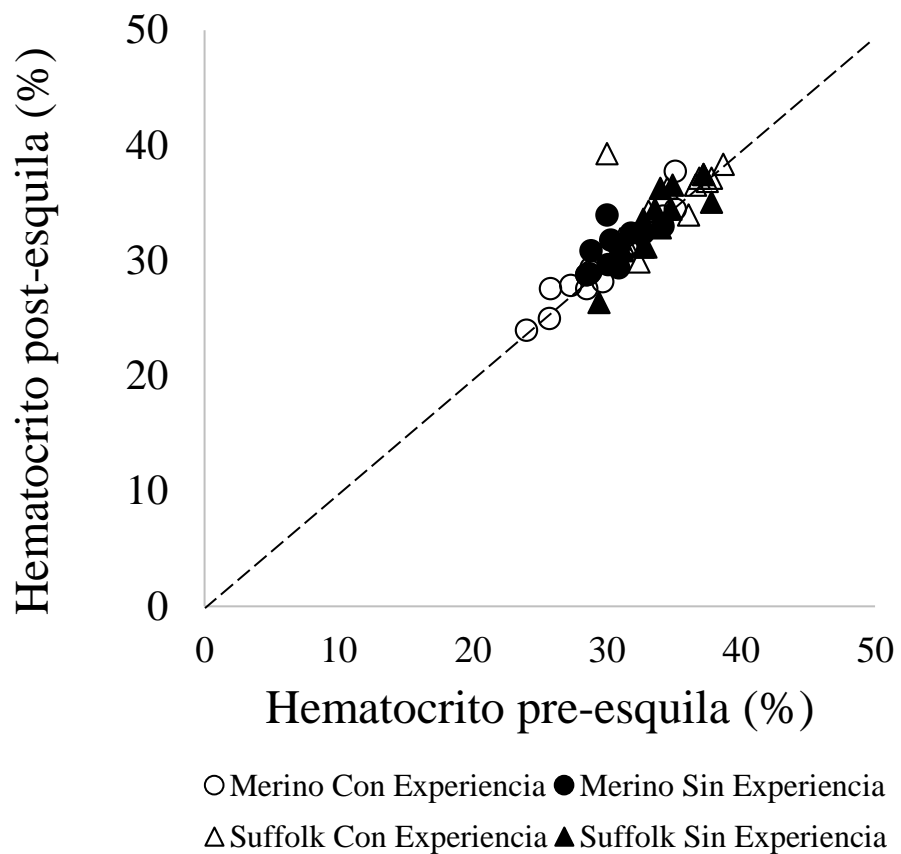


Figura de Apéndice 5. Concentración de Eritrocitos de ovejas medidas antes e inmediatamente después de ser esquiladas.

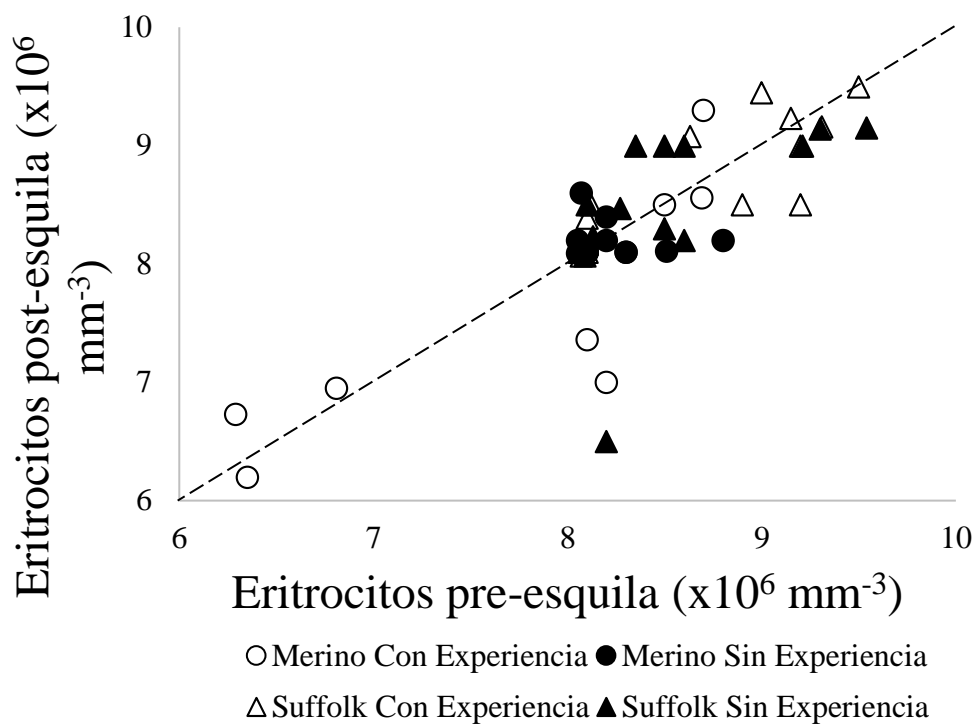


Figura de Apéndice 6. Concentración de Linfocitos de ovejas medidas antes e inmediatamente después de ser esquiladas.

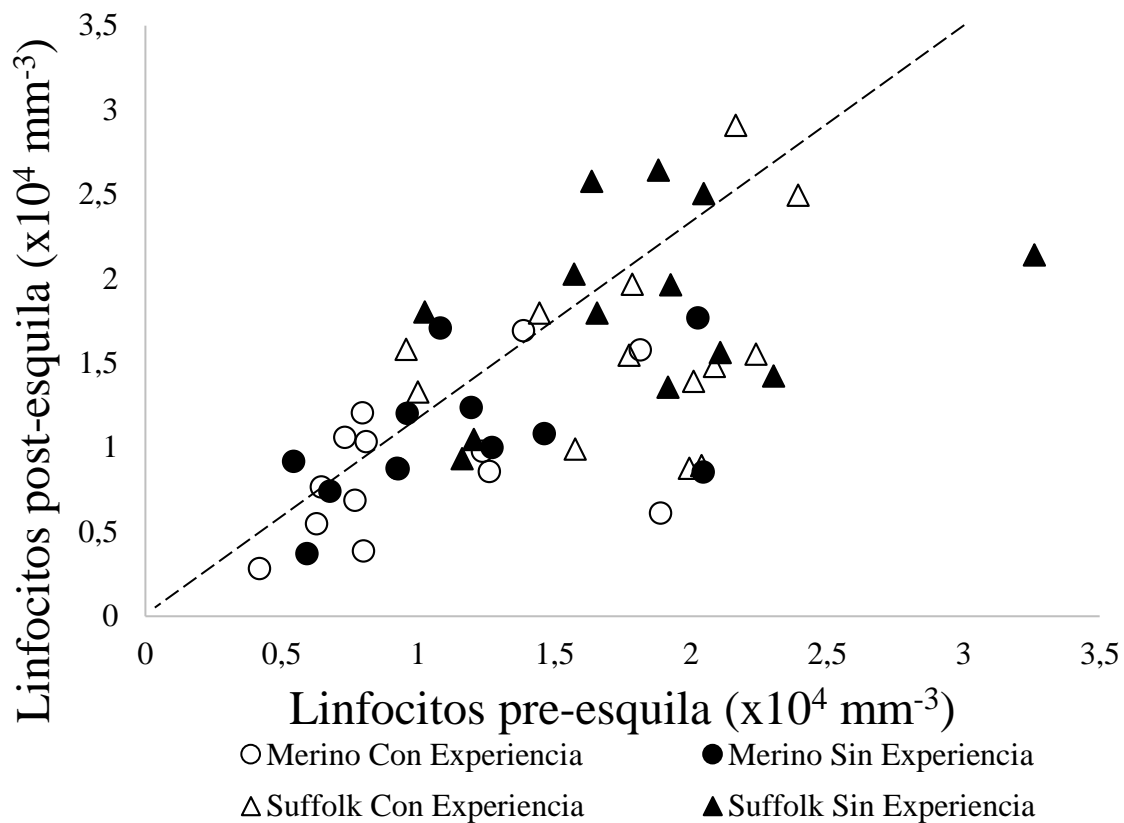


Figura de Apéndice 7. Concentración de Neutrófilos de ovejas medidas antes e inmediatamente después de ser esquiladas.

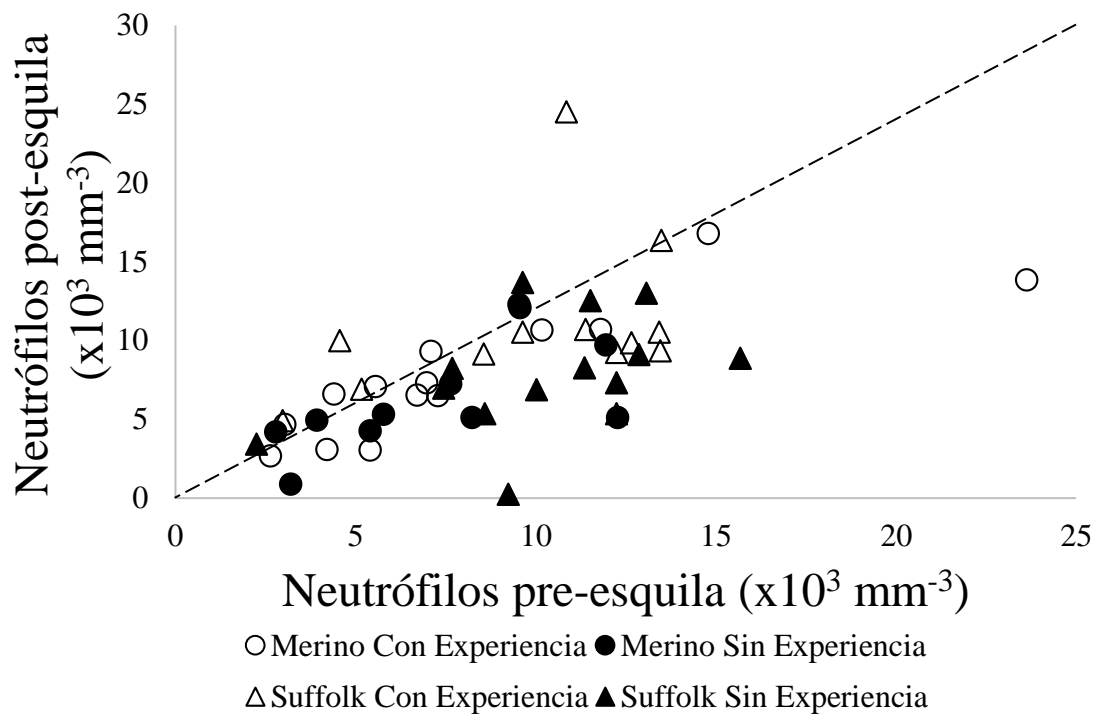
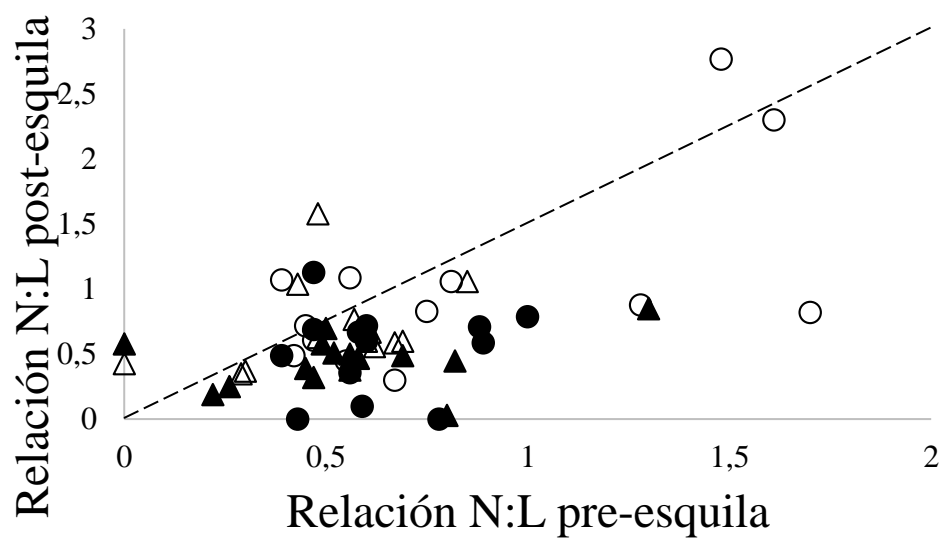


Figura de Apéndice 8. Relación Neutrófilos:Linfocitos de ovejas medidas antes e inmediatamente después de ser esquiladas.



○ Merino Con Experiencia ● Merino Sin Experiencia
△ Suffolk Con Experiencia ▲ Suffolk Sin Experiencia

Figura de Apéndice 9. Glicemia de ovejas medida antes e inmediatamente después de ser esquiladas.

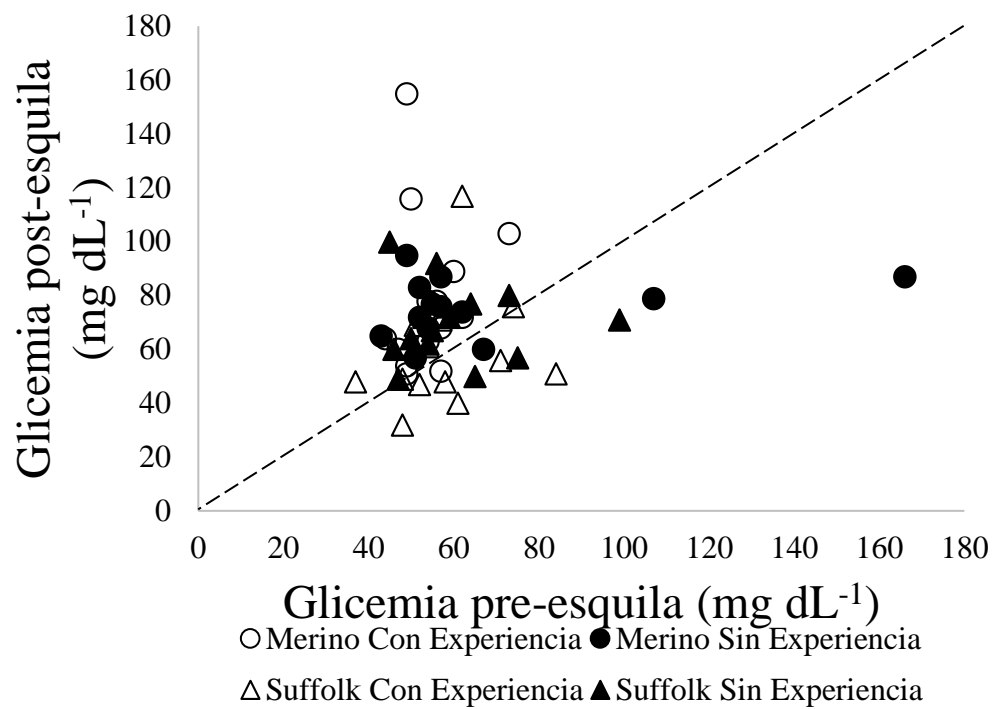


Figura de Apéndice 10. Cortisol de ovejas medido antes e inmediatamente después de ser esquiladas.

