



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**



FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**Evaluación del estrés en vacas *Bos indicus* y sus crías en dos
métodos de separación durante la lactancia y al destete
definitivo, y la eficiencia reproductiva de las madres en un
protocolo de sincronización con inseminación a tiempo fijo**

T E S I S

**PARA EL OBTENER EL TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO
ZOOTECNISTA**

PRESENTA:

PABLO ORTIZ MONTÚFAR

ASESORES:

MVZ PhD CARLOS SALVADOR GALINA HIDALGO

MVZ MPA PhD MANUEL DIONISIO CORRO MORALES

CIUDAD DE MÉXICO

2021



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

Al Colegio Madrid por todas las experiencias que me brindó durante 15 años tanto académicas como personales.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por la oportunidad de recibir cinco años de invaluable formación académica y profesional.

A mis padres María y Francisco, por apoyarme de manera incondicional y guiarme para ser la persona que soy.

A mis hermanos Pedro y María, por ser mis seres más amados y mis ejemplos a seguir.

AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos al proyecto PAPIIT - IN216820 por los recursos brindados para la realización de este proyecto.

Agradecimientos al proyecto PAPIME PE200319 por otorgarme un apoyo económico bajo concepto de Beca de Titulación por Tesis, ayudándome a poder realizar el trabajo de manera satisfactoria.

Al doctor Carlos Galina por darme la oportunidad para ampliar mis conocimientos, desarrollar innumerables competencias y por enseñarme el compromiso al trabajo,

Al doctor Manuel Corro y a la doctora Ivette por sus enseñanzas tanto académicas como personales que van desde la responsabilidad hasta la importancia de procurar a las personas que nos rodean.

A mis sinodales Ivette Rubio, Eduardo Posadas, Miguel Ángel Alonso y Joel Hernández por enriquecer con sus conocimientos el presente trabajo y por su cuestionamiento ante él.

A mi mejor amigo Francisco, por enseñarme qué es verdaderamente una amistad, por todas nuestras vivencias, por tanto cariño, apoyo, tiempo, paciencia y por recordarme que existen personas hermosas.

A mi buen amigo Kevin por su lealtad, a mis amigos Estefano, Rodrigo, Guillermo, Alejandro, Rafael, Renata, Javier y Sara por contribuir cada uno en un aspecto único en mi persona.

A Adriana por reforzarme que la salud mental es indispensable y por impulsarme a actuar siempre con prudencia.

Gracias Jessica por ser mi motor, por enseñarme lo hermoso que es el amor y por empujarme a siempre dar lo mejor.

CONTENIDO

<u>DEDICATORIA</u>	II
<u>AGRADECIMIENTOS</u>	III-IV
<u>CONTENIDO</u>	V-VI
<u>LISTA DE CUADROS</u>	VII
<u>LISTA DE FIGURAS</u>	VIII
<u>I. RESUMEN</u>	1-2
<u>II. INTRODUCCIÓN</u>	3-6
<u>III. HIPÓTESIS</u>	7
<u>IV. OBJETIVO GENERAL</u>	8
<u>4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS</u>	8
<u>V. Material y Métodos</u>	9
<u>5.1 Declaración ética</u>	9
<u>5.2 Localización</u>	9
<u>5.3 Animales</u>	9-10
<u>5.4 Peso corporal y colección de sangre</u>	11-12
<u>5.5. Registros conductuales</u>	13
<u>5.6 Desempeño reproductivo</u>	13-14
<u>5.7 Análisis estadístico</u>	14-15

<u>VI. RESULTADOS</u>	16-27
<u>VII. DISCUSIÓN</u>	28-34
<u>VIII. REFERENCIAS</u>	35-42

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Evaluación del reinicio de la actividad ovárica como respuesta a la separación.
(P.25)

Cuadro 2. Porcentajes de preñez por grupo con el uso de inseminación artificial a tiempo fijo. (P.26)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de flujo que incluye tratamientos, periodos de muestreo y actividades principales a lo largo de los 154 días experimentales. (P.12)

Figura 2. Peso corporal de los terneros. (P.17)

Figura 3. Concentración de cortisol en ternos y vacas. (P.19)

Figura 4. Porcentaje de terneros y vacas que permanecieron a <10 metros de la línea de separación la cerca durante el primer periodo de separación. (P.21)

Figura 5. Porcentaje de terneros y vacas que permanecieron a <10 metros de la línea de separación la cerca durante el segundo periodo de separación. (P.22)

Figura 6. Vocalizaciones / h de terneros y vacas. (P.25)

I. RESUMEN

Ortiz Montufar Pablo. Efecto del destete temporal o amamantamiento restringido sobre el comportamiento, niveles de cortisol y reproducción del ganado cebú (*Bos indicus*). Bajo la supervisión de MVZ Carlos Salvador Galina Hidalgo y MVZ Manuel Dionisio Corro Morales.

La información sobre las técnicas de destete temprano en ganado de trópico es escasa, particularmente en lo que respecta al efecto a largo plazo del destete temporal y el amamantamiento restringido. Por lo tanto, estudiamos los efectos de estas dos prácticas de manejo en el bienestar animal y el rendimiento a los 150 días posparto en 45 vacas y sus crías asignados de manera aleatoria a tres tratamientos. 1) Amamantamiento continuo (AC), los becerros permanecieron con sus madres desde el nacimiento hasta el destete; 2) se permitió que los becerros en amamantamiento restringido (AR) amamantaran 30 min/día desde el día 34 hasta el destete final (día 150) manteniéndose separados el resto del tiempo y 3) los becerros asignados a destete temporal (DT) fueron separados durante 72 h de sus progenitoras del día 33 al 36 pero permanecieron con sus madres el resto del tiempo. Las muestras de sangre (cortisol) y los datos de comportamiento (línea de separación a la cerca y vocalizaciones) fueron recopilados los días 32 a 36 (primer período) y 149 a 153 (segundo período). En el primer período, un mayor porcentaje de becerros de los grupos AR y DT permanecieron contiguos a la línea de separación de la cerca (<10 m) que los separaba de sus madres ($P < 0.0001$) y vocalizaron más que los becerros del grupo AC ($P < 0.0001$), mientras que, en el segundo período, las crías en AR tuvieron la mayor concentración de cortisol y frecuencia de vocalizaciones ($P < 0.05$). Asimismo, durante el primer período, un mayor porcentaje de becerros de AR y las vacas de DT se observaron próximos a la línea de separación de la cerca que las vacas de AC ($P < 0.0001$), y las vacas de DT vocalizaron más ($P = 0.001$). En el segundo período, las vacas del grupo AR tuvieron mayor concentración de cortisol

que sus análogas del grupo DT ($P = 0.037$) y las vacas del grupo AC ($P = 0.003$). Se observaron más vacas de los grupos DT y AC que AR contiguas a la línea de separación de la cerca ($P = 0.03$ y $P = 0.05$). En el día 150, los becerros y vacas del grupo DT vocalizaron más que los animales de los otros dos grupos ($P < 0.0001$). Antes de la separación en los tratamientos respectivos, 27 de las 45 vacas se encontraban ciclando (AC = 10; AR = 6; DT = 11). Después de la separación, 12 de las 18 vacas restantes reanudaron la actividad ovárica (AC = 3; AR = 5; DT = 4), y todas las vacas reanudaron su actividad cíclica después del tratamiento de sincronización del celo. El porcentaje de preñez fue similar entre AC, AR y DT (60, 53 y 60% respectivamente). En conclusión, la separación temporal incrementó la respuesta de angustia de las crías al destete definitivo incluso cuatro meses después, mientras que el amamantamiento restringido tendió a reducirla.

II. INTRODUCCIÓN

El bienestar animal se refiere al estado individual del animal en relación con el medio ambiente, por lo que la incapacidad y dificultad para hacer frente a las condiciones en que se desarrolla son indicadores de un pobre bienestar (Broom, 1991). Webster, (1994), engloba este concepto en puntos que llama “Las 5 libertades animales” que son: Libres de sed, hambre y malnutrición; libres de incomodidad, libres de dolor y enfermedad, libres de expresar su comportamiento normal y libres de miedo y estrés.

En América Latina existe un mercado emergente que promueve a la industria de productos pecuarios la incorporación de prácticas que mejoren el bienestar animal dentro de la cadena productiva para alcanzar a aquellos consumidores que deseen realizar decisiones conscientes con respecto al desarrollo de los animales con los cuales son producidos sus alimentos (para revisión ver Vargas-Bello-Pérez, et al., 2017). Tan solo en América Latina se produce el 35% de los alimentos de origen animal, y México se posiciona en el décimo cuarto país a nivel mundial con mayor producción de productos pecuarios (World Bank, 2012). La OEDC reportó en México un consumo per cápita de 10.94 kg de carne de res en el 2008, sin embargo, ha existido una disminución en el consumo de este producto a lo largo de 10 años a 8.85 kg per cápita (OEDC, 2018). Bajo este contexto, se presenta una oportunidad para los productores del sistema vaca-cría en el trópico para mejorar su productividad y a través del bienestar animal implementar estrategias de valor agregado (Miranda de la Lama et al., 2019).

La necesidad de adaptar la inquietud social y las demandas del mercado han llevado a crear estrategias prácticas y de confianza para monitorear y acceder al estado de bienestar (Blokhuis, et al., 2003). Los protocolos Welfare Quality® son uno de los métodos utilizados para evaluar el nivel de bienestar general en animales de granja siendo desarrollados para sistemas intensivos en

países industrializados (Kirchner, et al. 2014, Andreasen, et al., 2013, De Graaf, et al. 2017). Esta metodología se basa en la evaluación de los principios: 1) alimentación, 2) alojamiento, 3) salud y 4) comportamiento apropiado (Hernández, et al., 2017). A la fecha no existe un protocolo dirigido a evaluar específicamente el bienestar en el sistema vaca-cría. Simon, et al., 2016, describen una serie de consideraciones que deben tomarse en cuenta cuando se seleccionan las mediciones que se evaluarán para monitorear el bienestar y hacer comparaciones entre los ranchos en este tipo de operaciones.

En regiones tropicales uno de los factores de mayor importancia, cuando se quiere conseguir intervalos entre partos dentro de un rango de 12 a 14 meses, es el reinicio de la actividad ovárica particularmente en el ganado de carne *Bos indicus* y *Bos indicus x Bos taurus* (Murillo-Medina et al., 2009). Los elementos más importantes que están involucrados en el retraso del reinicio de la actividad ovárica posparto son el amamantamiento directo de la cría y la pérdida de peso, incluso antes del parto (Henao, et al. 2005, Díaz et al., 2017). De tal manera que los programas reproductivos desarrollados en estas condiciones deben enfocarse en lograr la concepción de un mayor número de vientres al comenzar la temporada reproductiva. Por ejemplo, Baruselli, et al., (2004) y Sá Filho, et al., (2013), han demostrado que la incorporación de protocolos de sincronización con inseminación a tiempo fijo cumple este objetivo, y tienen la ventaja de que pueden utilizarse en vacas sin importar si se encuentran o no ciclando.

Por otra parte, se han propuesto diferentes metodologías para disminuir el efecto del amamantamiento en la actividad reproductiva de la vaca, que consisten en la separación de la cría como es el destete temporal, el cual consiste en la separación del becerro por un tiempo definido siendo los periodos más comunes 24, 48 y 72 horas (Galina et al., 2001). Mientras que el

amamantamiento restringido es una técnica en la cual al becerro se le permite mamar por lapsos cortos de tiempo, usualmente no mayores a 30 minutos al día por un cierto periodo de tiempo o hasta el destete definitivo (Orihuela y Galina, 2019). Todo esto se hace con la intención de mejorar el desempeño productivo y reproductivo de las vacas posparto asociado con la actividad del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal. El amamantamiento y sólo la presencia del becerro inhiben el desarrollo folicular debido a la reducción de la liberación de GnRH por el hipotálamo, que resulta en pulsos insuficientes de LH, los cuales no permiten el desarrollo y maduración final de un folículo preovulatorio (Williams, 1990). Un adecuado manejo de la separación de la cría acorta el tiempo en el que existe un reinicio de la actividad ovárica posparto. (Das et al., 1999). Sin embargo, estas prácticas se originaron a partir de razas europeas de ganado vacuno (*Bos taurus*) en consecuencia, se evaluaron principalmente en áreas templadas donde se ha demostrado que inducen diferentes niveles de estrés y éxito reproductivo (Tegegne et al., 1992). Estos tratamientos pueden no ser prácticos cuando se desarrollan en sistemas extensivos debido a los costos en alimentación para las crías, el manejo continuo requerido y el efecto estresante tanto en la madre como en la descendencia (Pérez, et al., 2017).

Diversos estudios en diferentes especies sugieren que los eventos estresantes tales como la disrupción del vínculo madre-cría de una manera prematura, pueden programar de manera diferente el eje hipotálamo-pituitario-adrenal a través de efectos regulatorios por corticosteroides en la plasticidad en diferentes áreas del Sistema Nervioso Central, alterando el comportamiento y la respuesta del cortisol a eventos estresantes en etapas avanzadas del desarrollo de las crías (Van Oers et al., 1998; Schmidt et al., 2008; Brecchia et al., 2009). Por lo que hoy en día estos métodos se han enfocado en la reducción de los efectos negativos al destete con el uso de cercas de separación entre las madres y sus crías (Prince et al., 2003; Enríquez et al., 2010) y separación

temprana en dos pasos (Loberg et al., 2008; Burke et al., 2009; Hötzel et al., 2012; Ungerfeld et al., 2014). Sin embargo, estos trabajos son contradictorios entre ellos.

En general, existe una gran necesidad de investigación sobre este tema para establecer recomendaciones prácticas específicas para el ganado cebú en los sistemas de producción vaca-cría en el trópico y así evitar la apropiación errónea de la información generada en otras razas y ambientes. La hipótesis del presente estudio fue que el destete temporal o el amamantamiento continuo reducen el estrés en becerros y vacas, al igual que aumenta el peso corporal de los becerros al destete definitivo, y mejoran el rendimiento reproductivo de las madres. El objetivo del presente estudio fue evaluar los efectos a corto y largo plazo del destete temporal y el amamantamiento restringido en el bienestar y rendimiento de vacas y becerros cebú.

III. HIPÓTESIS

1. Los animales sometidos a destete temporal, presentarán mayores indicadores conductuales y fisiológicos de estrés que los que se encontrarán en un amamantamiento restringido durante la lactancia y al destete definitivo.
2. Los becerros sometidos a destete temporal presentarán mejores pesos al destete definitivo en comparación a los que tendrán un amamantamiento restringido durante la lactancia.
3. El reinicio de la actividad ovárica es más temprano en las vacas sometidas a un destete temporal que en las vacas con amamantamiento restringido durante toda la lactancia.
4. Las vacas sometidas a un destete temporal tendrán mayores porcentajes de preñez que las vacas con amamantamiento restringido usando un protocolo de sincronización con inseminación artificial a tiempo fijo a los 60 días posparto.

IV. OBJETIVO GENERAL

Evaluar los efectos a corto y largo plazo del destete temporal y el amamantamiento restringido sobre el bienestar y rendimiento de vacas y becerros cebú.

4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar el estrés de vacas y crías a través de indicadores conductuales y fisiológicos durante la separación temprana de la cría los 30 dpp durante la lactancia y al destete definitivo a los 150 dpp.
2. Comparar los pesos al destete de los becerros en dos métodos de separación temprana desde los 30 dpp hasta el destete definitivo a los 150 dpp.
3. Monitorear el reinicio de la actividad ovárica posparto de las madres ante dos métodos de separación temprana de la cría a los 30 dpp.
4. Comparar los porcentajes de preñez de las madres sometidas a dos métodos de separación temprana de la cría a los 30 dpp, utilizando un protocolo de sincronización con inseminación artificial a tiempo fijo a los 60 días posparto.

V. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 Declaración ética

El comité interno para el cuidado de los animales de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México aprobó los métodos utilizados en el presente trabajo acorde con el Código Internacional de Ética Médica de la Asociación Médica Mundial (Declaración de Helsinki).

5.2 Localización

El presente estudio se realizó en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical, CEIEGT, perteneciente a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, localizado en Tlapacoyan, Veracruz, México a 20°4'N y 97°3'O. El clima es cálido-húmedo con ausencia de una época de sequía definida. La precipitación pluvial anual promedio es de 1840 mm y la temperatura promedio varía en un rango de 14 a 35°C.

5.3 Animales

Fueron utilizadas 45 vacas multíparas entre 4 y 6 años de edad *Bos indicus* posparto y sus crías clínicamente sanas, a las que se les dio seguimiento a partir del parto hasta el destete definitivo a los 5 meses (150 dpp) mantenidas bajo un sistema extensivo en pastoreo rotacional conformadas por una asociación de *Cynodon niemfuensis* (pasto estrella), *Paspalum spp.* y *Axonopus spp.*, durante el periodo experimental. Se incluyeron en el experimento aquellas vacas cuyos partos fueron durante el mes de abril y que hayan presentado una condición corporal media de $4,0 \pm 0,1$ (MEDIA \pm EE) en una escala del 1 al 9 (1 = emaciado, 9 = obeso). La totalidad de las vacas con

sus crías se mantuvieron en amamantamiento continuo desde el parto hasta los 30 dpp (± 5 días) y se organizaron en tres grupos de acuerdo con su fecha de parto de manera aleatoria. Todas las vacas se identificaron con números consecutivos pintados en ambos costados, mientras que a las crías se les colocaron listones de color alrededor del cuello para su fácil diferenciación.

El grupo amamantamiento restringido (AR; n=15), fueron animales a los cuales se les sometió a una separación continua de 24 horas, permitiéndole al becerro el amamantamiento durante 30 minutos desde el día 32 posparto hasta el destete definitivo. En el grupo destete temporal (DT; n=15), las crías fueron separadas durante un periodo de 72 horas (días 33 al 36 posparto) y al término de este regresaron con sus madres y permanecieron en amamantamiento continuo hasta el destete definitivo. Finalmente, los animales del grupo amamantamiento continuo (AC; n=15), no fueron sometidos a ningún tipo de separación y se mantuvo a la madre con el ternero hasta el destete definitivo, este último grupo fue considerado el grupo testigo.

Durante la separación, todos los becerros del grupo DT se mantuvieron en un ambiente familiar evitando cualquier contacto sensorial con sus madres, para reducir el estrés de la separación, ya que los entornos desconocidos, la interacción con los becerros desconocidos y cualquier contacto con sus madres, inducen un mayor estrés en estos animales (Le Neindre, 1989; Rasby, 2007; Solano et al., 2007).

Todos los becerros fueron separados definitivamente de sus madres al día 150 posparto, y fueron colocados en un potrero contiguo, mitigando en su mayoría la comunicación auditiva, olfativa y visual con sus madres.

5.4 Peso corporal y colección de sangre

Durante las primeras tres horas después del nacimiento de la cría, se registró el sexo y peso. Los becerros fueron pesados diariamente del día 32 al 36 (periodo de destete temporal) y de los días 149 al 153 (periodo de destete definitivo), inmediatamente después de la colección de la muestra sanguínea.

Se recolectaron muestras de sangre diariamente durante dos períodos: desde el día 32 al día 36 y del día 149 al día 153 durante la separación parcial y el destete definitivo, respectivamente (Figura 1). Cada día a las 7:00, los animales fueron movidos cuidadosamente por dos manejadores de ganado experimentados que les son familiares, desde los potreros hasta el corral de manejo. Las muestras de sangre se recolectaron primero de los terneros e inmediatamente después de las vacas. Los terneros de destete temporal fueron trasladados de regreso a su potrero inmediatamente después del muestreo, evitando cualquier contacto con sus madres. Se recolectaron muestras de sangre de la vena coccígea en las vacas y de la vena yugular en los becerros utilizando tubos vacutainer sin anticoagulante para después centrifugarlas a 3000 rpm durante 30 minutos. El suero se almacenó en viales eppendorf de 1,6 ml a -20°C hasta la determinación de cortisol mediante radioinmunoensayo (Cort-CT2, CIS-BIO International, París, Francia). Los coeficientes de variación intra e interensayo fueron 13.3 y 10.9%, respectivamente. Una vez terminados los muestreos, los becerros de amamantamiento restringido restablecieron el contacto con sus madres y se les permitió mamar. Una vez finalizado el período de amamantamiento, las vacas fueron al

potrero con las vacas y becerros del grupo AC para pastar, mientras que los becerros del grupo AR permanecieron en un potrero independiente.

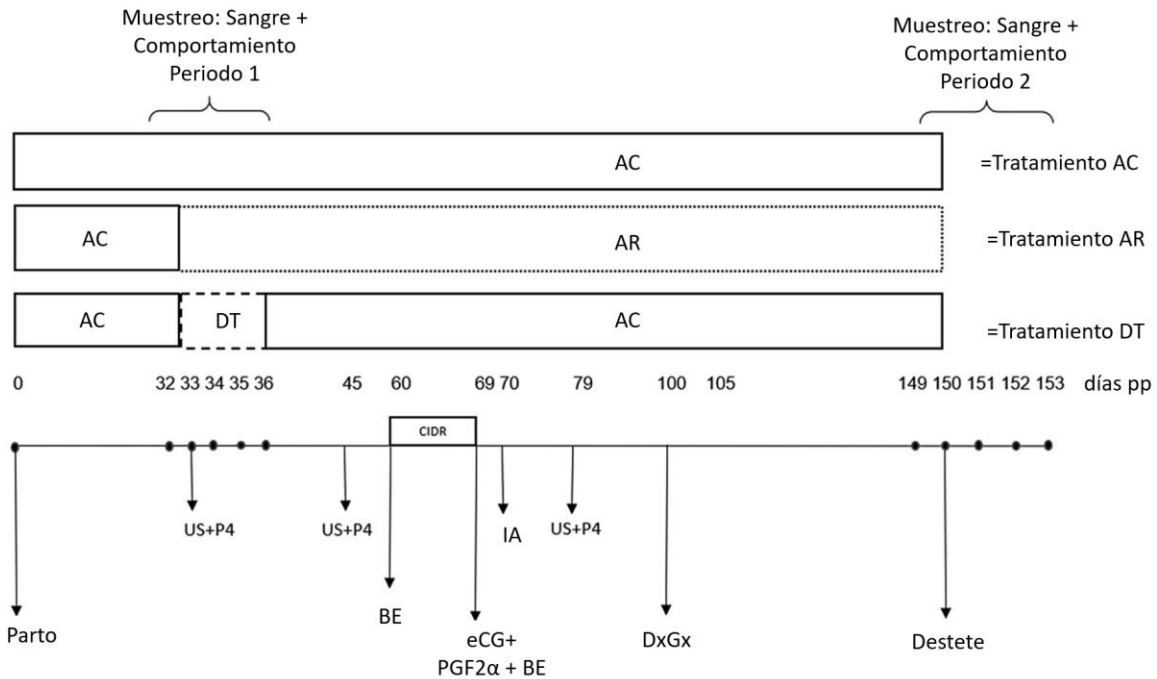


Figura 1. Diagrama de flujo que incluye tratamientos, periodos de muestreo y actividades principales a lo largo de los 154 días experimentales con 45 vacas cruzadas de raza *Bos indicus* y sus terneros. ●= Pesaje de terneros; AC= Amamantamiento continuo; AR= Amamantamiento restringido durante 30/min al día; DT= Destete temporal durante 72 horas; US= Examen ultrasonográfico; P4= Toma de muestras sanguíneas para la determinación de progesterona sérica; BE= Aplicación de Benzoato de Estradiol; eCG= Aplicación de Gonadotropina Coriónica Equina; IA= Inseminación Artificial; DxGx= Diagnóstico de Gestación; CIDR= Dispositivo interno de liberación controlada; Muestreo sangre + comportamiento= Muestras para la determinación de cortisol en suero y registro de vocalizaciones y distancia a la línea de separación de la cerca entre terneros y vacas.

5.5 Registros conductuales

5.5.1 Línea de separación de la cerca

Una línea imaginaria fue dibujada a 10 metros de manera paralela a la línea divisora que separaba el potrero de los carriles. El número de becerros y vacas que estaban a menos de 10 metros de esta línea fueron registrados cada 30 minutos, de las 12:00 a 16:00 horas, desde el día 32 al día 36, y del día 149 al día 153. El supuesto es que los terneros y las vacas con fuertes lazos permanecerían más cerca de la línea de la cerca en un intento de reunirse, como lo mencionan Pérez-Torres et al. (2016).

5.5.2 Vocalizaciones

Se observaron y registraron las vocalizaciones por las vacas y becerros durante un escaneo continuo de un minuto cada 20 min entre las 9:00 y las 16:00 diariamente, desde el día 32 al 36 y los días 149 al 153, equivalente a 21 minutos diarios por vaca/becerro. El porcentaje de becerros y vacas próximos a la línea de separación y el número de vocalizaciones fueron registrados por cuatro observadores experimentados, repartidos dos en observaciones de vacas y dos para observar a los becerros.

5.6 Desempeño reproductivo

5.6.1 Tratamiento hormonal

Todas las vacas fueron sometidas a un protocolo de sincronización con inseminación artificial a tiempo fijo empezando el día 60 posparto. La sincronización comenzó con la inserción de un dispositivo intravaginal con 1.9g de progesterona (CIDR 1900, Zoetis, Mexico) simultáneamente con la administración de 2 mg de benzoato de estradiol (Benzoato de Estradiol, Zoetis, Mexico). Nueve días después, el dispositivo intravaginal fue retirado junto con la aplicación de 400 UI de

gonadotropina coriónica equina eCG (Novormon 5000, Zoetis, Mexico) y con 25 mg de un análogo de prostaglandina F2 α (Dinoprost trometamina, Lutalyse, Zoetis, Mexico). Finalmente, 1 mg de benzoato de estradiol fue administrado al día 69 para realizar la inseminación artificial a tiempo fijo en todas las vacas al día 70 posparto. X

5.6.2 Actividad Ovárica

La actividad ovárica fue evaluada en todas las vacas al día 33 (antes de la separación), 45 (después de la separación) y 79 (después del tratamiento hormonal). La presencia o ausencia de un cuerpo lúteo (CL) fue determinada mediante ultrasonografía transrectal. Durante la evaluación, una muestra sanguínea fue colectada para la medición de progesterona sérica (P4). Las muestras fueron procesadas como se describió anteriormente en la determinación de cortisol. La concentración de progesterona sérica fue estimada usando un kit de radioinmunoensayo (Progest-RIA, CISBIO International, France). Los coeficientes de variación intra e interensayo fueron 2.0% y 3.7% respectivamente. Para corroborar la presencia de un CL se consideraron concentraciones de P4 mayores a 1 ng/ml (Bisinotto et al., 2010).

5.7. Análisis estadístico

La distribución normal de los datos se probó con una prueba de Shapiro-Wilk. Para el peso corporal, el comportamiento y las concentraciones de cortisol, se realizaron análisis independientes para el primer y segundo período de separación. El porcentaje de registros de vacas y becerros individuales observados dentro de la zona cercana a la línea de la cerca se calculó diariamente, así como el número de vocalizaciones / h de cada animal, para usarlos en el análisis final. Todas las variables para los becerros y las vacas se compararon de forma independiente para cada categoría con modelos mixtos, incluyendo tratamientos (AC, AR y DT), tiempo (día de cada período: Días

32 a 36 o Días 149 a 153) y la interacción entre tratamiento y tiempo tomada como factores principales utilizando SAS (software de análisis estadístico, Edición Universitaria). Las comparaciones post hoc se realizaron de acuerdo con instrucciones pdiff de SAS. El individuo se incluyó como efecto aleatorio y tiempo (días) como una medida repetida usando la estructura de covarianza de AC. En becerros debido a diferencias iniciales durante el primer período de separación, los datos desde el día 33 se incluyeron como covariables para las concentraciones de cortisol. El número de vacas que ovulan después del tratamiento hormonal fue calculado según la presencia de un CL confirmado con concentraciones de P4. El porcentaje de preñez se calculó como el número de vacas inseminadas entre las preñadas en el diagnóstico de gestación el día 100. La prueba de probabilidad exacta de Fisher se utilizó para comparar el número de vacas ciclando antes (día 33) y después (día 45) de la separación, así como el porcentaje de preñez entre tratamientos. Cuando sea apropiado, los datos se presentan como Media \pm EE. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas cuando $P < 0.05$.

VI. RESULTADOS

6.1 Peso corporal

El peso de los becerros durante el primer periodo de separación (días 32 a 36) varió con el tiempo ($P < 0.0001$) y se encontró una interacción entre los tratamientos y el tiempo ($P < 0.0001$). Mientras que del día 33 al 34 el peso el grupo amamantamiento restringido y destete temporal disminuyó ($P < 0.0001$), no se encontró diferencia para los becerros en amamantamiento continuo. Del día 34 al 35 sólo los becerros en destete temporal perdieron peso ($P = 0.002$) por otro lado, del día 35 al 36 sólo los becerros que se encontraban en amamantamiento continuo ganaron peso ($P = 0.0006$) (Figura 2A).

Durante el segundo periodo de separación (días 149 al 153), el peso de los becerros varió con el tratamiento ($P = 0.01$), pero no con el tiempo o con la interacción entre tratamiento y tiempo. Los becerros de destete temporal y amamantamiento continuo fueron más pesados que los pertenecientes al grupo de amamantamiento restringido ($P = 0.004$ y $P = 0.026$ respectivamente), sin diferencia encontradas entre esos dos grupos. (Figura 2B).

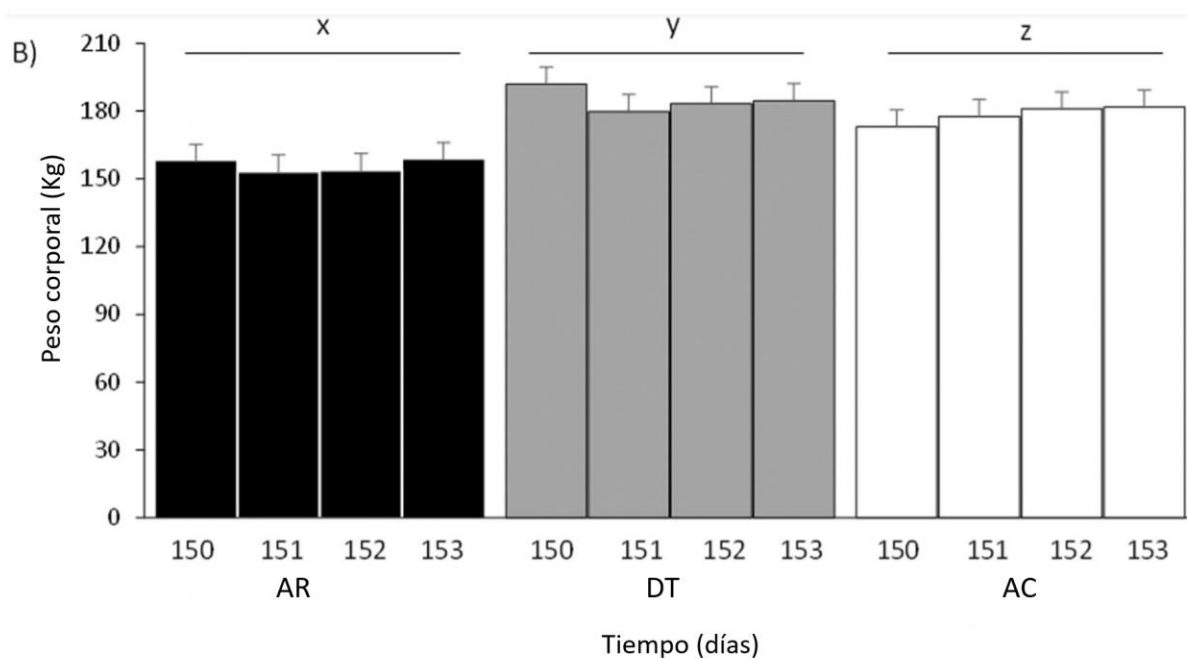
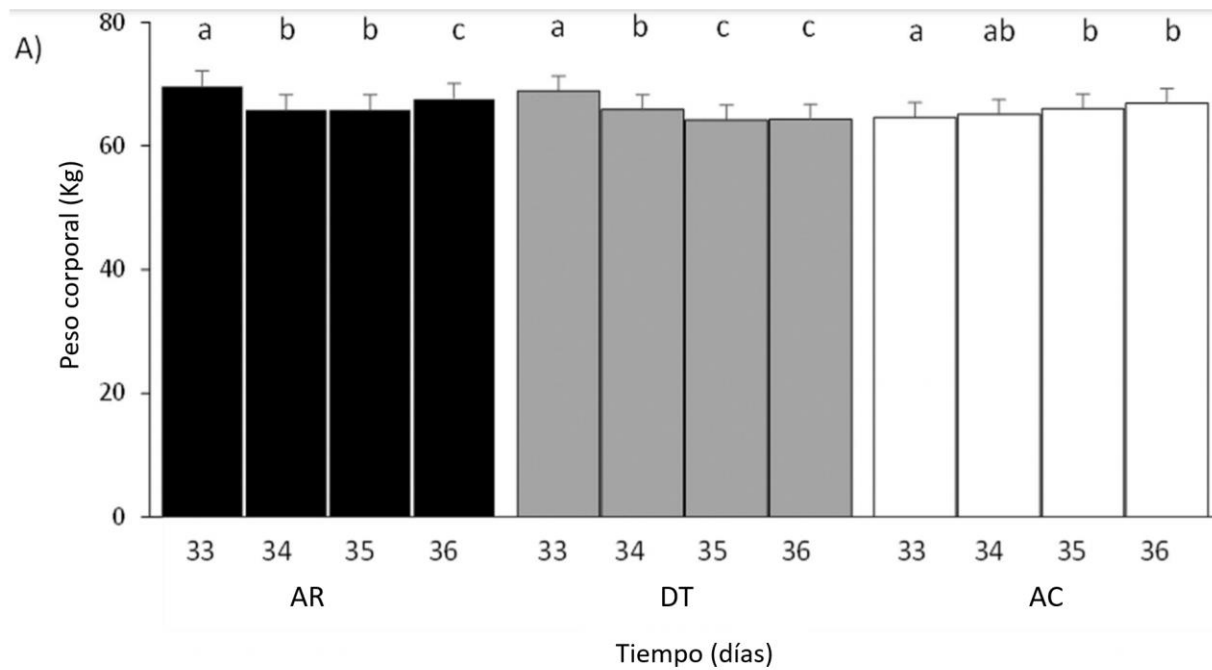


Figura 2. Peso corporal de los terneros (media \pm EE) sometidos a amamantamiento restringido (AR, negro), destete temporal (DT, gris) o amamantamiento continuo (AC, blanco). Los datos corresponden a todos animales durante el

período de separación del grupo DT (A: días 33–36) y al destete (B: días 150–153). AC = amamantamiento continuo; AR = amamantamiento restringido durante 30 min / día; DT = destete temporal por 72 h. *Literales a, b y c diferentes indican diferencias estadísticas ($P < 0.05$). En la Fig. A, como hubo múltiples interacciones, se indican las diferencias dentro de cada grupo. x, y, z. En la Fig. B, como solo se observaron diferencias de tratamiento, las literales x, y, z indican diferencias generales entre los grupos. Los datos se compararon con modelos mixtos.

6.2 Cortisol

Durante el primer periodo de separación, las concentraciones de cortisol en los becerros variaron con el tiempo ($P < 0.001$) y tendieron a diferir debido a la interacción entre tratamiento y tiempo ($P = 0.09$). Las concentraciones incrementaron del día 33 al 34 ($P = 0.03$), decrecieron para el día 35 ($P = 0.0002$) e incrementaron nuevamente para el día 36 ($P = 0.004$) (Figura 3A). Durante el segundo periodo de separación, las concentraciones de cortisol variaron de acuerdo al tratamiento ($P = 0.02$). Los becerros del grupo DT tuvieron concentraciones más altas que los del grupo AC ($P = 0.007$). En general, las concentraciones de cortisol incrementaron del día 150 al 151 ($P < 0.0001$) y disminuyeron en el día 152 (Fig. 3B).

Las concentraciones de cortisol en las vacas durante el primer periodo de separación, varió sólo con el tiempo ($P = 0.0004$), disminuyendo del día 33 al 34 ($P = 0.0008$) e incrementando del día 35 al 36 ($P = 0.013$) (Fig. 3C). Durante el segundo periodo de separación, las concentraciones de cortisol difirieron de acuerdo al tratamiento ($P = 0.01$): las vacas de amamantamiento restringido tuvieron mayores concentraciones de cortisol en plasma que las vacas en los grupos de amamantamiento continuo y destete temporal ($P = 0.003$ y $P = 0.037$ respectivamente), sin diferencias encontradas en estos últimos dos grupos. Las concentraciones también variaron con el tiempo ($P = 0.005$) un efecto explicado por la disminución de las concentraciones de cortisol en plasma del día 151 al 152. (Figura 3D).

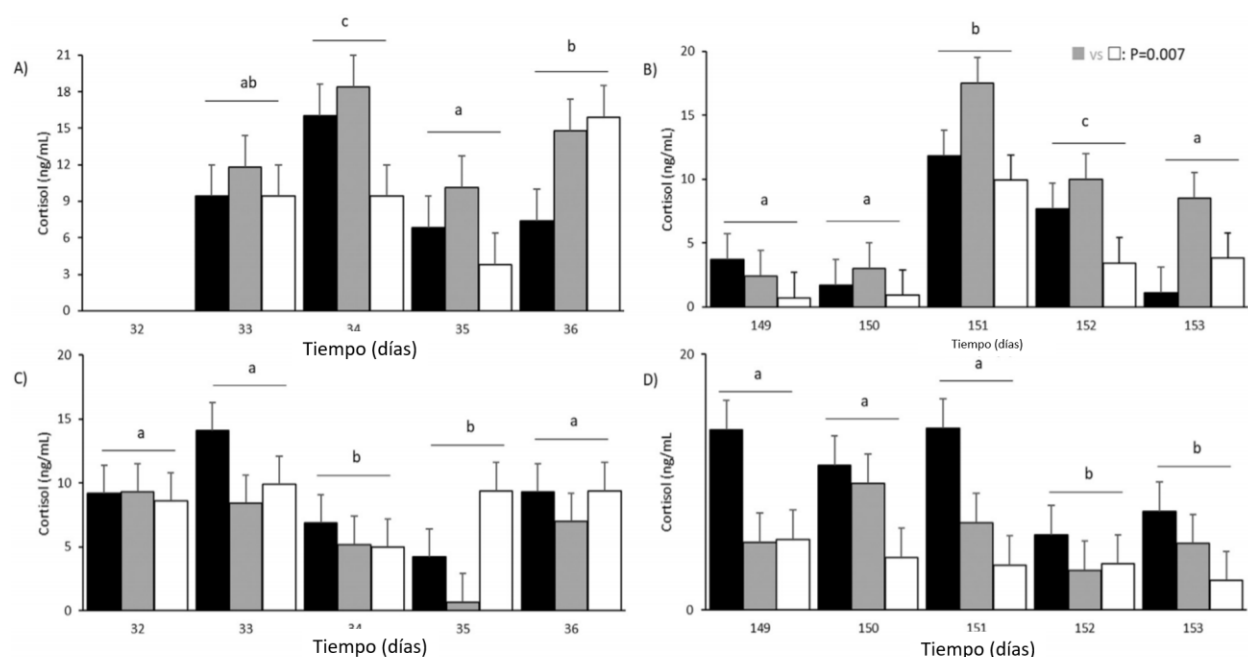


Figura 3. Concentración de cortisol (media \pm EE) de terneros (A y B) y vacas (C y D) sometidos a amamantamiento restringido (negro), destete temporal (gris) o amamantamiento continuo (blanco). Los datos corresponden a todos los animales durante el período de separación del grupo de destete temporal (días 33-36; A y C) y al destete definitivo (días 150-153; B y D), incluido un día antes de ambas separaciones (días 32 y 149). *Literales a, b y c diferentes indican diferencias estadísticas en el tiempo ($P < 0.05$). Los datos se compararon con modelos mixtos.

6.3 Línea de separación de la cerca

El porcentaje de becerros observados contiguos a la línea de separación de la cerca durante el primer periodo de separación fue mayor en los grupos amamantamiento restringido y destete temporal que en el grupo de amamantamiento continuo ($P < 0.0001$). En el día 32, no hubo diferencias; en el día 33 y día 35, fueron observados porcentajes más altos de becerros de los grupos de destete temporal y amamantamiento restringido en comparación con los del grupo de amamantamiento continuo (Figura 4A). Durante el día 34, los becerros de destete temporal mostraron una mayor frecuencia de permanencia próximos a la línea separación de la cerca

comparados con los de amamantamiento restringido, que a su vez tuvieron mayor frecuencia que los de amamantamiento continuo ($P < 0.05$). Finalmente, en el día 36 fue mayor el porcentaje de becerros de amamantamiento restringido observados cerca de la línea de separación de la cerca, en comparación con los otros dos grupos, sin embargo, el porcentaje de becerros de destete temporal observados fue mayor que en los de amamantamiento continuo ($P = 0.0001$).

En contraste, se observó un porcentaje más alto de vacas pertenecientes al grupo amamantamiento continuo cerca de la línea de la cerca que aquellas que se encontraban en amamantamiento restringido y destete temporal ($P = 0.0008$ y $P = 0.02$ respectivamente). En el día 32 los resultados observados en las vacas no variaron entre grupos; pero en los días 33, 34 y 35 se observó un porcentaje más alto de vacas de los grupos de amamantamiento restringido y destete temporal comparadas con las del grupo amamantamiento continuo ($P < 0.0001$) (Figura 4B). En el día 36 se observó un mayor porcentaje de vacas del grupo de destete temporal, en comparación con los grupos de amamantamiento restringido y continuo ($P < 0.0001$).

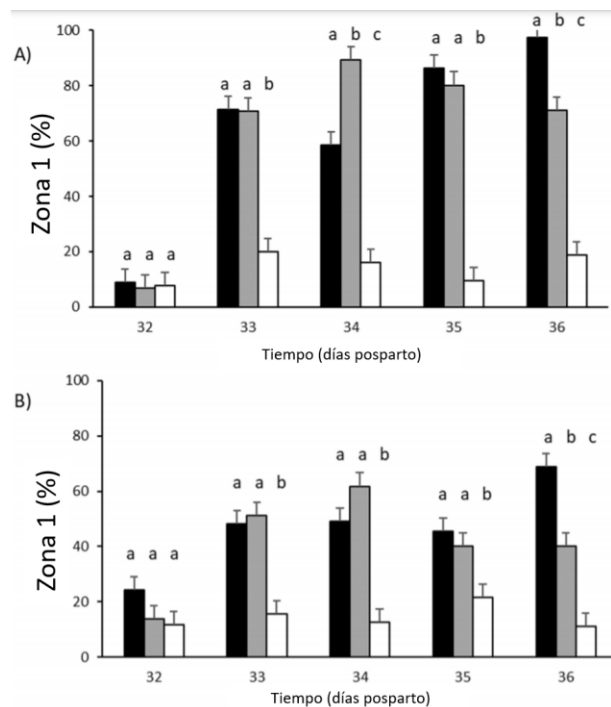


Figura 4. Porcentaje de terneros (A) y vacas (B) sometidos a amamantamiento restringido (negro), destete temporal (gris) o amamantamiento continuo (blanco), que permanecieron a <math><10</math> m de la línea de separación de la cerca durante la separación madre-cría. Los datos corresponden a todos los animales durante el período de separación del grupo de destete temporal (días 33 a 36) y el día anterior a la aplicación de los tratamientos (día 32). *Literales a, b y c diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos en cada día ($P < 0.05$). Los datos se compararon con modelos mixtos. Durante el segundo periodo de separación, el porcentaje de becerros próximos a la línea de separación de la cerca fue mayor en el día 149 en el grupo destete temporal que en los grupos amamantamiento restringido y continuo ($P < 0.0001$) (Figura 5A). Por otra parte, en los días 150 y 151 se encontró un mayor porcentaje de becerros de destete temporal y amamantamiento continuo que los del grupo amamantamiento restringido (día 150: $P < 0.0001$ y $P = 0.002$; día 151 $P = 0.0006$ y $P = 0.002$). En los días 152 y 153 no se observaron diferencias específicas.

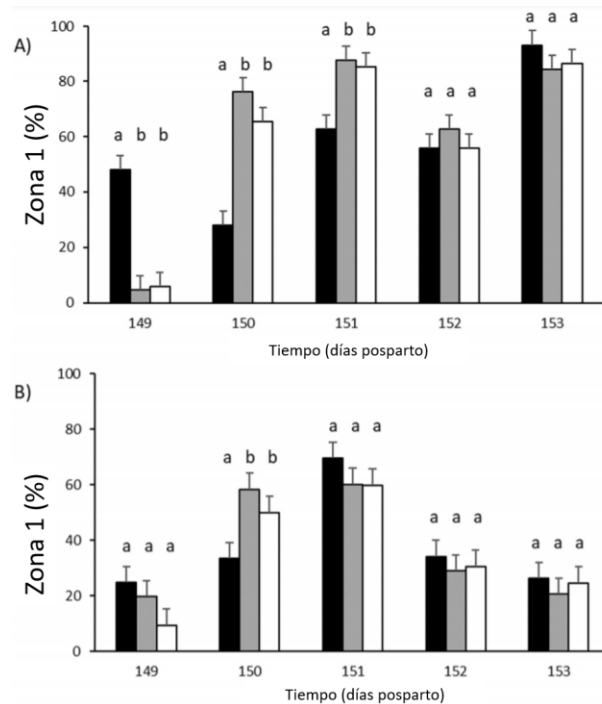


Figura 5. Porcentaje de terneros (A) y vacas (B) sometidas a amamantamiento restringido (negro), destete temporal (gris) o amamantamiento continuo (blanco), que permanecieron a <10 m de la línea de separación de la cerca durante los tres días posteriores al destete (días 150-153) y el día anterior (día 149). *Literales a y b diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos en cada día ($P < 0.05$). Los datos se compararon con modelos mixtos.

6.4 Vocalizaciones

Durante el primer periodo de separación de las crías, el número de vocalizaciones por hora fue afectado por el tratamiento, por el tiempo y por la interacción entre el tratamiento y el tiempo ($P < 0.0001$ para los tres efectos). La frecuencia de vocalizaciones difirió en general entre los tres grupos, siendo más frecuentes los becerros del grupo destete temporal que el grupo de amamantamiento continuo ($P = 0.02$), y siendo el grupo de amamantamiento continuo más

frecuentes que en el grupo amamantamiento restringido ($P < 0.0001$). En los días 33 y 34, los grupos amamantamiento restringido y destete temporal vocalizaron más veces que los animales del grupo amamantamiento continuo (día 33 $P = 0.004$ y $P < 0.0001$; día 34 $P < 0.0001$ para ambas comparaciones), mientras que los animales del grupo destete temporal tendieron a vocalizar más que los del amamantamiento restringido en ambos días ($P = 0.007$ en ambas instancias) (Figura 6A). En los días 35 y 36 la frecuencia de vocalizaciones fue diferente en los tres grupos (Día 35: amamantamiento restringido vs destete temporal, $P = 0.002$, amamantamiento restringido vs amamantamiento continuo, $P = 0.014$, destete temporal vs amamantamiento continuo, $P < 0.0001$; día 36: amamantamiento restringido vs destete temporal, $P = 0.05$, amamantamiento restringido vs amamantamiento continuo y destete temporal vs amamantamiento continuo, $P < 0.0001$).

De igual manera, en el segundo periodo de separación de crías, el número de vocalizaciones por hora se vio afectado por el tratamiento ($P = 0.02$), por el tiempo ($P < 0.0001$) y por la interacción entre el tratamiento y el tiempo ($P = 0.02$). En general, los becerros de destete temporal vocalizaron más que los de amamantamiento restringido ($P = 0.005$), mientras que los que se encontraban en amamantamiento continuo sólo mostraron una tendencia hacia la vocalización adicional ($P = 0.007$), mientras que no se encontraron diferencias entre los grupos destete temporal y amamantamiento continuo. En el día 150, los becerros del grupo destete temporal vocalizaron más que los de amamantamiento restringido ($P = 0.03$) y en el día 151 los becerros de destete temporal y amamantamiento continuo vocalizaron más que los de amamantamiento restringido ($P = 0.0002$ y $P = 0.001$ respectivamente) (Figura 6B). Durante el día 152 los becerros de destete temporal vocalizaron más que los de amamantamiento continuo ($P = 0.035$).

El número de vocalizaciones por hora registradas en las vacas durante el primero periodo de separación se vio afectado por el tratamiento, el tiempo y la interacción entre el tratamiento y el tiempo ($P < 0.0001$). En general las vocalizaciones por hora en el grupo destete temporal fue más alto que aquellas en los grupos amamantamiento restringido y amamantamiento continuo ($P < 0.0001$), la frecuencia difirió entre los tres grupos el día 33 ($P < 0.0001$) con las vacas del grupo destete temporal vocalizando de manera más frecuente que las de amamantamiento restringido, y esas a su vez, más que las vacas de amamantamiento continuo. (Figura 6C). En el día 34, las vacas de destete temporal vocalizaron más que las de amamantamiento continuo ($P = 0.0001$) y las vacas de amamantamiento restringido hicieron lo mismo ($P = 0.08$). Finalmente, el día 36, las vacas de amamantamiento restringido vocalizaron más que las de amamantamiento continuo ($P = 0.049$).

Durante el segundo periodo de separación de crías, el número de vocalizaciones varió con el tiempo ($P < 0.0001$) y con la interacción entre el tratamiento y el tiempo ($P < 0.0001$). Sin embargo, los tratamientos tendieron a afectar sólo la frecuencia de las vocalizaciones ($P = 0.08$). Diferencias fueron observadas solamente en el día 150, donde las vacas del grupo destete temporal vocalizaron más que las vacas de amamantamiento continuo y restringido ($P < 0.0001$ para ambas comparaciones) (Figura 6D).

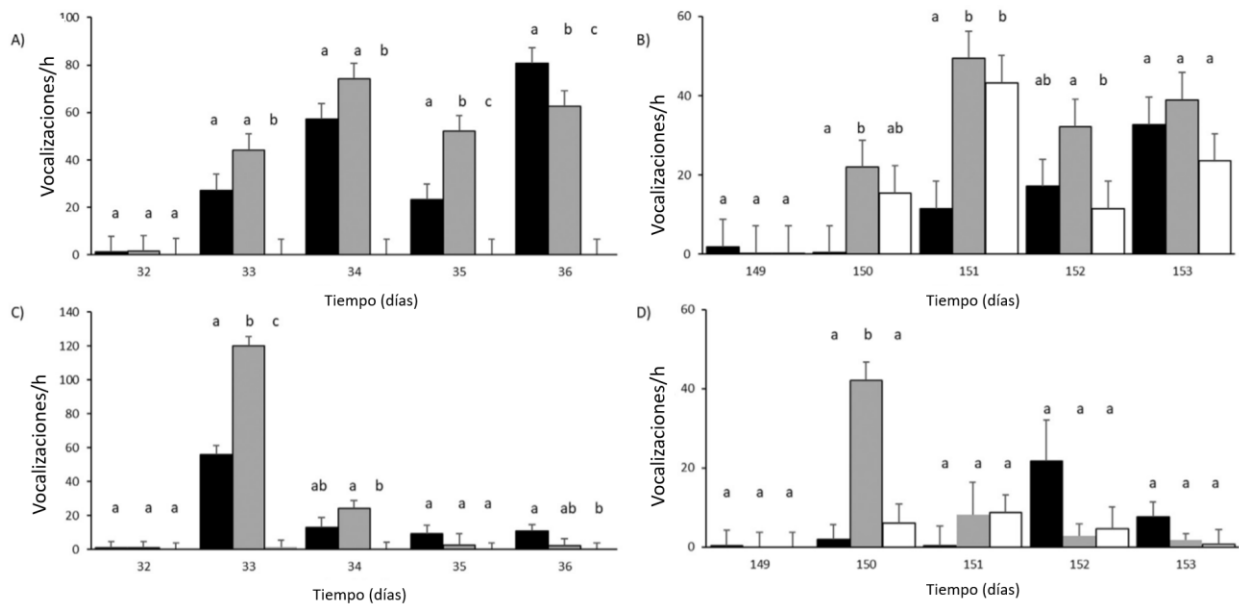


Figura 6. Vocalizaciones / h (media \pm EE) de terneros (A, B) y vacas (C, D) sometidas a amamantamiento restringido (negro), destete temporal (gris) o amamantamiento continuo (blanco). Los datos corresponden a todos los animales durante el período de separación por grupo (días 33-36) y al destete (días 150-153), incluido un día antes de las separaciones (días 32 y 149). *Literales a, b y c diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos en cada día ($P < 0.05$). Los datos se compararon con modelos mixtos.

6.5 Eficiencia Reproductiva

Antes de la separación de las vacas y sus crías (día 33), 27 de las 45 hembras bovinas se encontraron ciclando (AC 10/15, AR 6/15 y DT 11/15; $P=0.012$), mientras que después de la separación (día 45), 12 de las 18 vacas reanudaron sus ciclos (AC 3/5, AR 5/9 y DT 4/4; $P=0.068$) y todas las vacas se encontraban ciclando después del tratamiento de sincronización (día 79).

Cuadro 1. Evaluación del reinicio de la actividad ovárica como respuesta a la separación.

	N	CICLANDO	CICLARON DESPUÉS DEL TRATAMIENTO	PERMANECIERON EN ANESTRO	% DE RESPUESTA
AMAMANTAMIENTO CONTINUO	15	10	3	2	60.0 ^a
AMAMANTAMIENTO RESTRINGIDO	15	6	5	4	55.6 ^a
DESTETE TEMPORAL	15	11	4	0	100 ^b

*Literales diferentes entre las columnas representan valores significativos ($P < 0.05$)

El porcentaje de preñez acumulado entre los tres grupos por sincronización con inseminación artificial a tiempo fue de 57.8%, donde el tratamiento no presentó diferencia estadística ($P > 0.05$) en la ovulación después del tratamiento (AC = 15/15; 100%, AR = 15/15; 100% y DT = 15/15; 100%) y el porcentaje de preñez (AC = 9/15; 60.0%, AR = 8/15; 53.3% y DT = 9/15; 60.0%) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Porcentajes de preñez por grupo con el uso de inseminación artificial a tiempo fijo.

	N	CICLANDO A LA INSERCIÓN DE CIDR	OVULARON DESPUÉS DE LA SINCRONIZACIÓN	PERMANECIERON EN ANESTRO	% DE RESPUESTA	PREÑADAS	NO PREÑADAS	% DE PREÑEZ
AMAMANTAMIENTO CONTINUO	15	13	15	0	100 ^a	9	6	60.0 ^a
AMAMANTAMIENTO RESTRINGIDO	15	11	15	0	100 ^a	8	7	53.3 ^a

DESTETE	15	15	15	0	100 ^a	9	6	60.0 ^a
TEMPORAL								

*Literales diferentes entre las columnas representan valores significativos ($P < 0.05$)

VII. DISCUSIÓN

Hasta donde sabemos, este es el primer estudio en ganado cebú mostrando que los manejos de amamantamiento durante las primeras etapas de vida (al mes de edad) pueden tener consecuencias negativas sobre el peso corporal de los becerros y su respuesta al destete cuatro meses después. Esto indica que los manejos de amamantamiento en ganado cebú, incluso durante períodos cortos, no están exentos de riesgos, pero son capaces de modificar la respuesta de los terneros al destete definitivo cuatro meses después. Los terneros sometidos a un destete temporal, probablemente eran más susceptibles a una nueva separación debido a un recuerdo claro de su experiencia previa, como lo demuestra una respuesta intensificada desde el segundo día de destete. Estos resultados entonces nos refuerzan que los regímenes de lactancia y los diferentes métodos de destete debe estudiarse detenidamente antes de tomar la decisión de incorporarse en los sistemas de producción.

Durante el primer mes de edad, los becerros que fueron separados de sus las madres se vieron más afectados que los que se quedaron a su lado. Efectivamente, un mayor número de becerros de amamantamiento restringido y destete temporal comparados con los de amamantamiento continuo estaban más próximos a la línea de separación de la cerca que los apartaba de sus madres y vocalizaban con más frecuencia, lo que sugiere una mayor motivación para reunirse con sus madres. Stěhulová y col. (2017) observaron respuestas similares al comienzo de un período de separación en becerros y vacas *Bos taurus*, como aumento de vocalizaciones y actividad locomotora.

Pérez-Torres et al. (2016) encontraron que el porcentaje de vacas que permanecen a menos de 10 metros de la línea de separación de la cerca que las apartaba de sus crías, disminuyeron a medida que aumentaba la duración de la separación. Sin embargo, este efecto desapareció al final del período de evaluación, lo que sugiere que existe un proceso de habituación, particularmente

importante en los becerros en amamantamiento restringido que continuaron siendo amamantados 30 min / día hasta el destete definitivo. Estos hallazgos concuerdan con Acevedo et al. (2005) quienes reportaron que la temperatura corporal y la frecuencia tanto respiratoria como cardíaca disminuyeron significativamente después del pico observado el primer día de separación. Sin embargo, estas respuestas pueden incrementarse por la interacción entre las madres y sus crías, como becerros y vacas que pueden escucharse y responder entre sí sin estar en contacto, situación que podría aumentar su frustración como sucede cuando están separados por una valla (Enríquez et al., 2010). Por lo tanto, el periodo corto para volver a su estado inicial puede estar relacionado con la ineficacia de mostrar señales de estrés, como vocalizaciones, en vez de un proceso de habituación, lo que nos plantea la necesidad de otros enfoques para determinar las razones detrás de la duración de las respuestas.

Las vacas del grupo de destete temporal vocalizaron con mayor frecuencia que las vacas en los otros dos grupos durante el primer periodo de separación, y esto sugiere que se vieron más afectadas. Sin embargo, aparte de la separación de los becerros, la interrupción de la lactancia resulta en la acumulación de la leche en la ubre lo que lleva a una congestión y un aumento en la tensión de la ubre que provoca dolor y el malestar (Lynch et al., 2010).

Además, hasta nuestro conocimiento, este aspecto no ha sido estudiado en ganado de carne, y las investigaciones en ganado lechero han demostrado que obstaculizar un solo evento de ordeño afecta la comodidad de la vaca (O'Driscoll et al., 2011) incrementando las concentraciones de cortisol en sangre y heces (Odensten et al., 2007; Bertulat et al., 2013). Periodos cortos de separación también pueden incrementar la cantidad de células somáticas en leche en ganado de carne (Ungerfeld et al., 2015). Las vacas del grupo de destete temporal fueron las que tuvieron una mayor cantidad de vocalizaciones, que podría estar asociado al dolor por la acumulación de leche,

mientras que las vacas que se encontraban amamantando de una manera restringida, los periodos diarios de lactancia ayudan a evacuar la ubre, así como reducir ciertos parámetros de estrés (Hernández et al., 2006). Además, las vacas del grupo amamantamiento restringido pueden estar familiarizadas con el procedimiento, buscando a su cría activamente durante la separación, mientras en sus reencuentros diarios, la ubre puede ser vaciada resultando becerros y vacas satisfechos.

También es interesante que persistió la motivación de reencontrarse después del destete más en los becerros que en sus madres, pues las vocalizaciones continuaron por un periodo más largo que en las vacas. Los becerros más jóvenes son más susceptibles al estrés de la separación que los becerros más grandes (Pérez-Torres et al., 2016), por lo que los becerros de 35 días de edad probablemente estén en una edad de mayor apego a sus madres. Sin embargo, hasta donde sabemos, todavía no hay estudios que comparen las diferencias en la duración de la respuesta de los becerros y las vacas a la separación en relación con la edad del becerro, información necesaria para mejorar el bienestar animal durante los procedimientos que incluyen manejos del contacto vaca-cría. La intensidad de respuesta de los becerros a comparación de las vacas difiere de lo que previamente se había reportado en ganado *Bos taurus* (Ungerfeld et al., 2015), aunque estos estudios se realizaron con becerros de mayor edad. Queda por ver si estas diferencias se encuentran relacionadas con las especies y/o con diferencias importantes en los sistemas de producción, prácticas y manejo, como que las vacas utilizadas en el presente estudio estaban más acostumbradas a un manejo intensivo comparadas a las usadas en el estudio de Ungerfeld et al., 2015.

La mayor frecuencia de vocalizaciones emitidas por los becerros de destete temporal comparadas a los de amamantamiento restringido sugiere que 30 minutos diarios de amamantamiento y contacto con sus madres reduce el estrés y puede ser efectivo al menos en el cumplimiento parcial

de la motivación de los becerros para mamar de sus madres. Además, los becerros de amamantamiento restringido vocalizaron y se observaron con una menor frecuencia contiguos a la línea de separación de la cerca que los becerros de destete temporal de 24 y 48 horas, respectivamente, después del inicio del tratamiento. En estudios previos de Hernández et al. (2006) se encontró que la succión reduce ciertas respuestas al estrés en becerros bajo regímenes de crianza artificial. Asimismo, Acevedo et al. (2005) informaron que los becerros de amamantamiento restringido tenían concentraciones menores de cortisol, mostraron una menor actividad locomotora, emitieron una menor cantidad de vocalizaciones y pasaron más tiempo acostados que los becerros de destete temporal, sugeriendo que los periodos cortos de lactancia o contacto social pueden reducir la ansiedad.

Johnsen y col. (2015) demostraron que el ganado lechero, las madres y los terneros formaron un vínculo que es independiente a la crianza, lo que sugiere que la disminución del tiempo de lactancia en ganado cebú no disminuye el apego entre sí al momento del destete definitivo. Además, los becerros de destete temporal y amamantamiento continuo fueron más pesados que los de amamantamiento restringido, indicando que mientras los becerros pudieran superar un aislamiento de 72 horas, los 30 minutos de amamantamiento restringido no aportan suficiente alimento para alcanzar pesos similares a los obtenidos en becerros que no fueron separados de sus madres. También es posible que la leche consumida por los becerros de amamantamiento restringido haya contenido más energía y grasa metabolizable, como ocurre en el ganado lechero (Fröberg et al., 2008). Adicionalmente, la disminución del tiempo de amamantamiento podría incrementar la respuesta al estrés antes del destete. Orihuela y Hernández (2007) observaron que los becerros a los cuales se les permitió mamar, reaccionaron de una manera estresante a corto plazo con pequeños incrementos de cortisol en sangre, comparados con los terneros criados artificialmente.

La mayor concentración de cortisol y la mayor frecuencia de vocalizaciones observadas en los becerros de destete temporal después del destete definitivo sugieren que una experiencia previa de separación pudiera causar un trauma en vez de una preparación para el destete. Pérez et al. (2017) reportaron que los becerros sometidos a la privación de la madre durante la lactancia de 48 a 72 horas eran más pesados a día 270 de edad, que aquellos que permanecieron con su madre o separados por 24 horas. Estos autores sugieren que una experiencia previa de separación temporal, motiva fuertemente a los becerros a consumir alimento sólido durante la privación materna que pudiera ser útil al destete. También, Johnsen et al. (2018) demostraron que, en ganado de leche, la independencia nutricional por las madres, modera las respuestas en cuanto a comportamiento al momento de la separación. Sin embargo, en términos del estrés, los terneros sometidos al tratamiento de destete temporal parecen ser más susceptibles al destete, cuestionando la hipótesis que predecía que la separación podría amortiguar los episodios estresantes a la hora del destete definitivo.

Parece que una separación previa es recordada por los becerros, quienes luego responden de una manera más intensa a la separación definitiva, debido a una fuerte percepción negativa de los riesgos de la separación de sus madres. Además, la ingesta de alimento sólido a esta edad tan precoz es baja que está lejos de crear una independencia nutricional, aunque los terneros aprenden a iniciar su consumo.

Antes de considerar recomendaciones específicas para sistemas de separación vaca-cría, se requiere más investigación. Aunque el amamantamiento restringido y el destete temporal pueden producir beneficios reproductivos al mismo tiempo que fomentar la independencia de la madre para facilitar el destete (Newberry y Swanson, 2008; Veissier et al., 2013), repetidos procesos de separación pueden inducir estrés crónico, como se ha demostrado en roedores (Nishi et al., 2014).

Vale la pena investigar si la repetición de la separación materna pudiera tener un impacto negativo en los becerros (o las madres) comparados con un contacto continuo. También en roedores, Medeiros et al. (2009) encontró que el cuidado materno puede reducir la sensibilidad al dolor en edad adulta, mientras que la privación materna puede causar hipersensibilidad al dolor (Moloney et al., 2012) y un déficit en el aprendizaje social (Lévy et al., 2003; Melo et al., 2006). Estos aspectos aún no se han investigado en el ganado (Maegher et al., 2019).

En el presente estudio, la mitad de los animales se encontraban ciclando antes de los tratamientos de separación, lo que sugiere que el amamantamiento no inhibió la ciclicidad con tanta fuerza como reportaron (Williams, 1990; Montiel y Ahuja, 2005). Aunque el método de separación no tuvo un efecto aparente, se debe considerar que la sensibilidad de las variables reproductivas es muy baja, además de considerar el pequeño número de animales utilizados en el estudio. Además, todas las vacas se vieron sometidas a un tratamiento hormonal, enmascarando las posibles diferencias con el tiempo. Sin embargo, independientemente del tamaño de muestra, una tendencia hacia un mayor porcentaje de vacas ciclando en el grupo de destete temporal se pudo observar. Por otra parte, un menor porcentaje de vacas y becerros pertenecientes a este grupo se observaron contiguos a la línea de la cerca con una menor frecuencia de vocalizaciones durante el destete, comparado con los otros dos grupos.

En nuestro estudio, la mitad de los animales en todos los grupos se encontraban ciclando previo al tratamiento. Crowe y col. (2014) han demostrado que el primer folículo dominante en ganado *Bos indicus* puede desarrollarse entre los 10 a 15 días después del parto, un evento directamente relacionado con la reserva corporal de grasa, por lo tanto, evitando retrasos en el inicio de la actividad ovárica (Gross et al., 2011). Muy probablemente, por la separación de la cría (Mondragón et al., 2016), más animales comenzaron a ciclar comparados con el grupo testigo. Domínguez et

at. (2011) demostró que el diámetro folicular está directamente relacionado con una adecuada condición corporal que fue el caso en el presente estudio

La respuesta ovulatoria y el porcentaje de preñez después de la inseminación artificial a tiempo fijo coincide con lo encontrado por Ayres et al. (2008) y Sales et al. (2012), donde los porcentajes de preñez fueron de 63.2 y 57.5%, respectivamente. Además, Sá Filho et al. (2013) y Baruselli et al. (2018) demostraron que un protocolo de sincronización con animales de una buena condición corporal, seguida por inseminación artificial a tiempo fijo es una técnica que puede tener éxito incluso en animales que no están ciclando.

En ganado cebú la separación temporal durante 72 h, cuando los becerros eran menores de un mes de edad, aumentó la respuesta al estrés en el destete definitivo incluso cuatro meses después de la primera separación, mientras que en los animales de amamantamiento restringido durante los cuatro meses parece debilitar la respuesta negativa al destete definitivo. Sin embargo, los protocolos que contemplan un amamantamiento restringido implican un aumento considerable de la carga de trabajo, algo que debe tenerse en cuenta. Se necesitan más estudios con tamaños de muestra más grandes para diferenciar entre los efectos de separación y los efectos reproductivos en las madres y posibles consecuencias a largo plazo tanto en becerros como en madres.

VIII. REFERENCIAS

- 1) Acevedo, N., Hernández, C., Orihuela, A., Lidfors, L.M., Berg, C., 2005. Effect of restricted suckling or temporal weaning on some physiological and behavioural stress parameters in zebu cattle (*Bos indicus*). *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 18, 1176–1181.
- 2) Álvarez-Rodríguez, J., Palacio, J., Sanz, A., 2010. Effects of nursing frequency and parity on the productive, metabolic and reproductive parameters of beef cows. *Livestock Science* 129, 111–121.
- 3) Andreasen, S. N., Wemelsfelder, F., Sandøe, P., Forkman, B., 2013. The correlation of Qualitative Behavior Assessments with Welfare Quality® protocol outcomes in on-farm welfare assessment of dairy cattle. *Applied Animal Behaviour Science* 143(1), 9-17.
- 4) Ayres, H., Martins, C.M., Ferreira, R.M., Mello, J.E., Dominguez, J.H., Souza, A.H., Valentin, R., Santos, I.C.C., Baruselli, P.S., 2008. Effect of timing of estradiol benzoate administration upon synchronization of ovulation in suckling Nelore cows (*Bos indicus*) treated with a progesterone-releasing intravaginal device. *Animal Reproduction Science* 109, 77–87.
- 5) Baruselli, P. S., Reis, E. L., Marques, M. O., Nasser, L. F., Bó, G. A., 2004. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. *Animal Reproduction Science* 82, 479-486.
- 6) Baruselli, P.S., Ferreira, R.M., Sá Filho, M.F.D., Bó, G.A., 2018. Using artificial insemination versus natural service in beef herds. *Animal* 12, 45–52.
- 7) Beaver, A., Meager, R.K., von Keyserlingk, M.A.G., Weary, D.M., 2019. A systematic review of the effects of early separation on dairy cow and calf health. *Journal of Dairy Science* 102, 5784–5810.
- 8) Bertulat, S., Fischer-Tenhagen, C., Suthar, V., Möstl, E., Isaka, N., Heuwieser, W., 2013. Measurement of fecal glucocorticoid metabolites and evaluation of udder characteristics to estimate stress after sudden dry-off in dairy cows with different milk yields. *Journal of Dairy Science* 96, 3774–3787.

- 9) Bisinotto, R.S., Chebel, R.C., Santos, J.E.P., 2010. Follicular wave of the ovulatory follicle and not cyclic status influences fertility of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 93, 3578–3587.
- 10) Blokhuis, H. J., Jones, R. B., Geers, R., Miele, M., Veissier, I., 2003. Measuring and monitoring animal welfare: transparency in the food product quality chain. *Animal Welfare-Potters Bar Then Wheathampstead* 12(4), 445-456.
- 11) Brecchia, G., Bonanno, A., Dall'Aglio, C., Mercati, F., Zerani, M., Di Grigoli, A., Boiti, C., 2009. Neuroendocrine responses in neonatal mother-deprived rabbits. *Brain Research* 1304, 105-112.
- 12) Broom, D. M., 1991. Animal welfare: concepts and measurement. *Journal of Animal Science* 69(10), 4167-4175.
- 13) Burke, N. C., Scaglia, G., Boland, H. T., Swecker Jr, W. S., 2009. Influence of two-stage weaning with subsequent transport on body weight, plasma lipid peroxidation, plasma selenium, and on leukocyte glutathione peroxidase and glutathione reductase activity in beef calves. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 127(3-4), 365-370.
- 14) Crowe, M.A., Diskin, M.G., Williams, E.J., 2014. Parturition to resumption of ovarian cyclicity: comparative aspects of beef and dairy cows. *Animal* 8, 40–53.
- 15) Das, S. M., Wiktorsson, H., Forsberg, M., 1999. Effects of calf management and level of feed supplementation on milk yield and calf growth of Zebu and crossbred cattle in the semi-arid tropics. *Livestock Production Science* 59(1), 67-75.
- 16) De Graaf, S., Bart, A., Buijs, S., Andreasen, S., De Boyer Des Roches, A., Haskell, M. J., Bijttebier, J., 2017. Sensitivity of the integrated Welfare Quality® scores to changing values of individual dairy cattle welfare measures. *Animal Welfare*. 2 (3), 534-545.
- 17) Díaz, R., Galina, C. S., Rubio, I., Corro, M., Pablos, J. L., Rodríguez, A., Orihuela, A., 2017. Resumption of ovarian function, the metabolic profile and body condition in Brahman cows (*Bos indicus*) is not affected by the combination of calf separation and progestogen treatment. *Animal Reproduction Science* 185, 181-187.
- 18) Diskin, M.G., Kenny, D.A., 2016. Managing the reproductive performance of beef cows. *Theriogenology* 86, 379–387.

- 19) Dominguez, M.A., Villanueva-Castillo, A., Ponce-Acosta, M.P., Castillo-Almaguer, R., Gutierrez-Rodriguez, E., Medellin-Avila, O., López-Zavala, R., Salinas-Chavira, J., 2011. Effects of body condition and composition on the onset of postpartum ovarian activity in beef cows. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 10, 3236–3243.
- 20) Enríquez, D., Hötzel, M.J., Ungerfeld, R., 2011. Minimising the stress of weaning of beef calves: a review. *Acta Veterinaria Scandinavica* 53, 28.
- 21) Enríquez, D.H., Ungerfeld, R., Quintans, G., Guidoni, A.L., Hötzel, M.J., 2010. The effects of alternative weaning methods on behaviour in beef calves. *Livestock Science* 128, 20–27.
- 22) Fröberg, S., Gratte, E., Svennersten-Sjaunja, K., Olsson, I., Berg, C., Orihuela, A., Galina, C.S., García, B., Lidfors, L., 2008. Effect of suckling (restricted suckling) on dairy cows' udder health and milk let-down and their calves' weight gain, feed intake and behaviour. *Applied Animal Behaviour Science* 113, 1–14.
- 23) Galina, C. S., Rubio, I., Basurto, H., Orihuela, A., 2001. Consequences of different suckling systems for reproductive activity and productivity of cattle in tropical conditions. *Applied Animal Behaviour Science* 72(3), 255-262.
- 24) Gross, J., van Dorland, H.A., Bruckmaier, R.M., Schwarz, F.J., 2011. Performance and metabolic profile of dairy cows during a lactational and deliberately induced negative energy balance with subsequent realimentation. *Journal of Dairy Science* 94, 1820–1830.
- 25) Henao G, Montiel F, Ahuja C., 2005 Body condition and suckling as factors influencing the duration of postpartum anestrus in cattle: a review. *Animal Reproduction Science* 85, 1–26.
- 26) Henao, G., Olivera-Ángel, M., Maldonado-Estrada, J.G., 2000. Follicular dynamics during postpartum anestrus and the first estrous cycle in suckled or non-suckled Brahman (*Bos indicus*) cows. *Animal Reproduction Science* 63, 127–136.
- 27) Hernandez, A., König, S. E., Zúñiga, J. J. R., Galina, C. S., Berg, C., Gonzales, M. R., Villalobos, A. D., 2017. Implementation of the Welfare Quality® protocol in dairy farms raised on extensive, semi-intensive and intensive systems in Costa Rica. *Journal of Animal Behaviour Biometeorol* 5, 132-138.

- 28) Hernández, C., Orihuela, A., Fröberg, S., Lidfors, L.M., 2006. Effect of restricted suckling on physiological and behavioural stress parameters in dual-purpose cattle in the tropics. *Livestock Science* 99, 21–27.
- 29) Hötzel, M.J., Quintans, G., Ungerfeld, R., 2012. Behaviour response to two-step weaning is diminished in beef calves previously submitted to temporary weaning with nose flaps. *Livestock Science* 149, 88–95.
- 30) Hötzel, M.J., Ungerfeld, R., Quintans, G., 2010. Behavioural responses of 6-month-old beef calves prevented from suckling: influence of dam's milk yield. *Animal Production Science* 50, 909–915.
- 31) Johnsen, J.F., de Passille, A.M., Mejdell, C.M., Bøe, K.E., Grøndahl, A.M., Beaver, A., Rushen, J., Weary, D.M., 2015. The effect of nursing on the cow-calf bond. *Applied Animal Behaviour Science* 163, 50–57.
- 32) Johnsen, J.F., Mejdell, D.M., Beaver, A., de Passillé, A.M., Rushen, J., Weary, D.M., 2018. Behavioural responses to cow-calf separation: the effect of nutritional dependence. *Applied Animal Behaviour Science* 201, 1–6.
- 33) Kirchner, M. K., Westerath, H. S., Knierim, U., Tessitore, E., Cozzi, G., Winckler, C., 2014. On-farm animal welfare assessment in beef bulls: consistency over time of single measures and aggregated Welfare Quality® scores. *animal* 8(3), 461-469.
- 34) Le Neindre, P., 1989. Influence of rearing conditions and breed on social behaviour and activity of cattle in novel environments. *Applied Animal Behaviour Science* 23, 129–140.
- 35) Lévy, F., Melo, A.I., Galef, G., Madden, M., Fleming, A.S., 2003. Complete maternal deprivation affects social but not spatial learning in adult rats. *Developmental Psychobiology* 43, 177–191.
- 36) Loberg, J. M., Hernandez, C. E., Thierfelder, T., Jensen, M. B., Berg, C., Lidfors, L., 2008. Weaning and separation in two steps—A way to decrease stress in dairy calves suckled by foster cows. *Applied Animal Behaviour Science* 111(3-4), 222-234.
- 37) Lynch, E., Earley, B., McGee, M., Doyle, S., 2010. Effect of abrupt weaning at housing on leukocyte distribution, functional activity of neutrophils, and acute phase protein response of beef calves. *BMC Veterinary Research* 6, 39.

- 38) Meagher, R.K., Beaver, A., Weary, D.M., von Keyserlingk, M.A.G., 2019. A systematic review of the effects of prolonged cow-calf contact on behavior, welfare, and productivity. *Journal of Dairy Science* 102, 5765–5783.
- 39) de Medeiros, C.B., Fleming, A.S., Johnston, C.C., Walker, C., 2009. Artificial rearing of rat pups reveals the beneficial effects of mother care on neonatal inflammation and adult sensitivity to pain. *Pediatric Research* 66, 272–277.
- 40) Melo, A.I., Lovic, V., Gonzalez, A., Madden, M., Sinopoli, K., Fleming, A.S., 2006. Maternal and littermate deprivation disrupts maternal behavior and social-learning of food preference in adulthood: tactile stimulation, nest odor, and social rearing prevent these effects. *Developmental Psychobiology* 48, 209–219.
- 41) Miranda-de la Lama, G. C., Estévez-Moreno, L. X., Villarroel, M., Rayas-Amor, A. A., María, G. A., Sepúlveda, W. S., 2019. Consumer attitudes toward animal welfare-friendly products and willingness to pay: Exploration of Mexican market segments. *Journal of Applied Animal Welfare Science* 22(1), 13-25.
- 42) Moloney, R.D., O’Leary, O.F., Felice, D., Bettler, B., Dinan, T.G., Cryan, J.F., 2012. Early-life stress induces visceral hypersensitivity in mice. *Neuroscience Letters* 512, 99–102.
- 43) Mondragón, V., Galina, C.S., Rubio, I., Corro, M., Salmerón, F., 2016. Effect of restricted suckling on the onset of follicular dynamics and body condition score in Brahman cattle raised under tropical conditions. *Animal Reproduction Science* 167, 89–95.
- 44) Montiel, F., Ahuja, C., 2005. Body condition and suckling as factors influencing the duration of postpartum anestrus in cattle: a review. *Animal Reproduction Science* 85, 1–26.
- 45) Murillo Medina AL, Córdova-Izquierdo A, Soriano Robles R, Mendoza Martínez GD, Castillo-Juárez H., 2009 Breed differences in calving interval in the humid Mexican tropic. *Tropical Animal Health and Production* 41, 1357–1362
- 46) Newberry, R.C., Swanson, J.C., 2008. Implications of breaking mother–young social bonds. *Applied Animal Behaviour Science* 110, 3–23.

- 47) Nishi, M., Horii-Hayashi, N., Sasagawa, T., 2014. Effects of early life adverse experience on the brain: implications from maternal separation models in rodents. *Frontiers in Neuroscience* 8, 166.
- 48) O'Driscoll, K., Gleeson, D., O'Brien, B., Boyle, L., 2011. Does omission of a regular milking event affect cow comfort? *Livestock Science* 138, 132–143.
- 49) Odensten, M.O., Berglund, B., Waller, K.P., Holtenius, K., 2007. Metabolism and udder health at dry-off in cows of different breeds and production levels. *Journal of Dairy Science* 90, 1417–1428.
- 50) OECD, 2018. OECD-FAO Agricultural Outlook: Meat Consumption “En línea” Disponible en < <https://data.oecd.org/agroutput/meat-consumption.htm> > “13 de abril del 2020”
- 51) Orihuela, A., Galina, C.S., 2019. Effects of separation of cows and calves on reproductive performance and animal welfare in tropical beef cattle. *Animals* 9, 223–236.
- 52) Orihuela, A., Hernández, C., 2007. Cortisol response of restricted suckling or artificially milk-feeding to a short-term emotional stressor in dairy calves and their dams. *Animal Welfare* 16, 41–52.
- 53) Pérez, L.I., Orihuela, A., Galina, C.S., Rubio, I., Corro, M., Cohen, A., Hernández, A., 2017. Effect of different periods of maternal deprivation on behavioral and cortisol responses at weaning and subsequent growth rate in zebu (*Bos indicus*) type cattle. *Livestock Science* 197, 17–21.
- 54) Pérez-Torres, L., Orihuela, A., Corro, M., Rubio, I., Alonso, M.A., Galina, C.S., 2016. Effects of separation time on behavioral and physiological characteristics of Brahman cows and their calves. *Applied Animal Behaviour Science* 179, 17–22.
- 55) Pérez-Torres, L., Rubio, I., Corro, M., Cohen, A., Orihuela, A., Galina, C.S., Pablos, J.L., 2015. A pre-synchronization program at early postpartum might increase the chances of *Bos indicus* cows cycling prior to 50 days regardless of the length of calf separation. *Journal of Reproduction and Development* 61, 199–203.
- 56) Price, E.O., Harris, J.E., Borgwardt, R.E., Seen, M.L., Connor, J.M., 2003. Fenceline contact of beef calves with their dams at weaning reduces the negative effects of separation on behavior and growth rate. *Journal of Animal Science* 81, 116–121.

- 57) Quintans, G., Viñoles, C., Sinclair, K.D., 2004. Follicular growth and ovulation in postpartum beef cows following calf removal and GnRH treatment. *Animal Reproduction Science* 20, 5–14.
- 58) Rasby, R., 2007. Early weaning beef calves. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice* 23, 29–40.
- 59) Sá Filho, M.F., Penteadó, L., Reis, E.L., Reis, T.A., Galvão, K.N., Baruselli, P.S., 2013. Timed artificial insemination early in the breeding season improves the reproductive performance of suckled beef cows. *Theriogenology* 79, 625–632.
- 60) Sales, J.N.S., Carvalho, J.B.P., Crepaldi, G.A., Cipriano, R.S., Jacomini, J.O., Maio, J.R.G., Souza, J.C., Nogueira, G.P., Baruselli, P.S., 2012. Effects of two estradiol esters (benzoate and cypionate) on the induction of synchronized ovulations in *Bos indicus* cows submitted to a timed artificial insemination protocol. *Theriogenology* 78, 510–516.
- 61) Schmidt, M. V., Liebl, C., Sterlemann, V., Ganea, K., Hartmann, J., Harbich, D., Muller, M. B., 2008. Neuropeptide Y mediates the initial hypothalamic-pituitary-adrenal response to maternal separation in the neonatal mouse. *Journal of Endocrinology* 197(2), 421-428.
- 62) Simon, G. E., Hoar, B. R., Tucker, C. B., 2016. Assessing cow–calf welfare. Part 2: Risk factors for beef cow health and behavior and stockperson handling. *Journal of Animal Science* 94(8), 3488-3500.
- 63) Solano, J.J., Orihuela, A., Galina, C.S., Aguirre, V., 2007. A note on behavioral responses to brief cow-calf separation and reunion in cate (*Bos indicus*). *Journal of Veterinary Behaviour* 2, 10–14.
- 64) Stěhulová, I., Valníčková, B., Šárová, R., Špinka, M., 2017. Weaning reactions in beef cattle are adaptively adjusted to the state of the cow and the calf. *Journal of Animal Science* 95, 1023–1029.
- 65) Tegegne, A., Entwistle, K. W., Mukasa-Mugerwa, E., 1992. Effects of supplementary feeding and suckling intensity on postpartum reproductive performance of small East African Zebu cows. *Theriogenology* 38(1), 97-106.

- 66) Ungerfeld, R., Hötzel, M.J., Quintans, G., 2015. Changes in behavior, milk production and bodyweight in beef cows subjected to two-step or abrupt weaning. *Animal Production Science* 55, 1281–1288.
- 67) Ungerfeld, R., Hötzel, M.J., Scarsi, A., Quintans, G., 2011. Behavioral and physiological changes in early-weaned multiparous and primiparous beef cows. *Animal* 5, 1270–1275.
- 68) Van Oers, H. J., de Kloet, E. R., Whelan, T., Levine, S., 1998. Maternal deprivation effect on the infant’s neural stress markers is reversed by tactile stimulation and feeding but not by suppressing corticosterone. *Journal of Neuroscience* 18(23), 10171-10179.
- 69) Vargas-Bello-Pérez, E., Miranda-de la Lama, G. C., Teixeira, D. L., Enríquez-Hidalgo, D., Tadich, T., Lensink, J., 2017. Farm animal welfare influences on markets and consumer attitudes in Latin America: the cases of Mexico, Chile and Brazil. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics* 30(5), 697-713.
- 70) Veissier, I., Care, S., Pomies, D., 2013. Suckling, weaning, and the development of oral behaviours in dairy calves. *Applied Animal Behaviour Science* 147, 11–18.
- 71) Webster, A. J., 2001. Farm animal welfare: the five freedoms and the free market. *The Veterinary Journal* 161(3), 229-237.
- 72) Williams, G.L., 1990. Suckling as a regulator of postpartum rebreeding in cattle: a review. *Journal of Animal Science* 68, 831–852.
- 73) World Bank, 2012 World Development Indicators. “En línea” Disponible en <<http://data.worldbank.org/indicator/NY.GDP.MKTP.CD/countries?display=default>> “12 de abril del 2020”