

01672

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

COMPORTAMIENTO SOCIAL DE LAS VACAS LECHERAS
EN SISTEMAS INTENSIVOS DE PRODUCCIÓN Y
SU RELACIÓN CON EL ESTRÉS

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS VETERINARIAS

PRESENTADO POR:

M.V.Z. MARCELA DEL ROSARIO GONZÁLEZ DE LA VARA

ASESORES:

M.V.Z., Ph.D. FRANCISCO GALINDO MALDONADO

M.V.Z., M.C. GUSTAVO ABASCAL TORRES



MÉXICO, D. F.

SEPTIEMBRE DEL 2000



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.

DECLARACION

En mi carácter de autor doy consentimiento a la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México para que la tesis esté disponible para cualquier tipo de reproducción e intercambio bibliotecario.

M.V.Z. Marcela del Rosario González de la Vara.

**A Rita, a mis papás, a mi familia,
a Pedro, a mis amigos, a las vacas.**

AGRADECIMIENTOS

-En especial al Doctor Francisco Galindo Maldonado por su apoyo, amistad y paciencia durante el desarrollo de esta maestría.

-A mis asesores y tutor Gustavo Abascal Torres y José Juan Martínez Maya.
Al Doctor Ted Friend por su asesoría y ayuda.

-Al MVZ Adolfo Kunio Yabuta por su amistad y cooperación durante el trabajo de campo de esta tesis.

-Al Doctor Vicente Lemus y a los trabajadores del rancho Cuatro Milpas por su apoyo moral y físico para el desarrollo de este trabajo.

-Al Ingeniero Agrónomo José Ornelas dueño del rancho Las Margaritas por prestarme sus instalaciones y sus vacas para realizar esta tesis.

-A David Fuentes y Rocío Ledezma por su ayuda y amistad en el trabajo de observación.

-A Susana Rojas y Clara Murcia por su ayuda invaluable en el laboratorio y al Departamento de Reproducción de esta facultad.

-A CONACYT, Fundación UNAM y a la Geraldine Dodge Foundation por el apoyo económico brindado para la realización de esta tesis.

RESUMEN

Los objetivos de esta tesis fueron evaluar el comportamiento agresivo, afiliativo y de mantenimiento de vacas lecheras en sistemas intensivos de producción y su relación con la actividad del eje hipotalámico adrenocortical. Se realizaron 2 estudios en 2 ranchos de producción intensiva de leche, con vacas de la raza Holstein-Friesian. En el estudio 1, se observó la conducta individual y social de 40 vacas (276 horas), divididas en 4 grupos: grupo 1P en pastoreo ($n=11$), grupo 2C en confinamiento con 20 echaderos para 10 vacas (proporción 2:1), grupo 3C 10 echaderos y 10 vacas (1:1) y grupo 4C con 5 echaderos para 10 vacas (1:2). Al final del período de observación se realizó una prueba de desafío a la ACTH para evaluar actividad adrenal. Se hicieron 4 sangrados a cada vaca, para medir los niveles de cortisol en suero. En el estudio 2 se observaron 30 vacas (15 primíparas y 15 múltiparas) dentro de un hato de 60 vacas estabuladas durante 90 horas. Al final del período de observación, se hicieron 7 sangrados a cada vaca para medir cortisol en suero con la prueba de desafío a la ACTH. En el estudio 1 se observó que los grupos en confinamiento presentaron más agresión (topeteos y amenazas) ($p < 0.05$). Se encontró una correlación positiva entre agresión y afiliación ($p < 0.05$). No se observaron diferencias significativas en los niveles de cortisol entre grupos, ni se encontraron correlacionados con la conducta social. En el estudio 2, las vacas primíparas tuvieron índices de dominancia menores que las múltiparas ($p < 0.05$), comían y descansaban menos, presentaron menos sincronización en su comportamiento ($p < 0.05$) y lamían más a otras vacas del hato ($p < 0.05$). Además presentaron niveles de cortisol más elevados a los 60 y 90 minutos después de la inyección de ACTH ($p < 0.05$). Estos resultados permiten conocer más acerca de cuales individuos pueden ser más susceptibles a presentar problemas de bienestar y salud.

SUMMARY

The aims of this thesis were to assess the social and maintenance behaviour of dairy cattle under intensive productive conditions, and to relate them with the adrenocortical activity. Two studies were carried out using 70 Holstein-Friesian cows from different dairy farms. In the first study, 40 cows distributed into 4 groups were observed during 276 hours, the first group 1P (n=11) was at pasture; group 2C in confinement (n=10) had 20 cubicles for 10 cows (2:1) proportion; group 3C (n=10) had 10 cubicles/10 cows (1:1) and the 4C group (n=10), had 5 cubicles/10 cows (1:2). After the observation period, an ACTH challenge test was carried out to evaluate the adrenal activity. Four blood samples obtained for each cow were used to measure cortisol levels. In the Study 2, 15 primiparous and 15 multiparous dairy cows were observed from a herd of 60 cows. After the observation period (90 hours), 7 blood samples were obtained to measure cortisol levels in a ACTH challenge test. In Study 1, confined cows groups showed more aggressive behaviour (head pushing and threatenings) than cows at pasture ($p<0.05$). A positive correlation was found between aggression and affiliative behaviour ($p<0.05$). No significative differences in cortisol levels were found between groups. Cortisol was not related with social behaviour. In the Study 2, primiparous cows had a lower displacement index than multiparous cows ($p<0.05$). Also spent less time feeding and lying, and had a lower synchronised behaviour ($p<0.05$), and showed more social licking ($p<0.05$). The primiparous cows showed higher serum cortisol levels obtained at 60 and 90 minutes after the ACTH intravenous injection. These results shows relevant information about the individual susceptibility of dairy cows to present welfare and health problems.

TABLA DE CONTENIDOS

| | |
|---|-----|
| Declaración..... | I |
| Dedicatoria..... | II |
| Agradecimientos..... | III |
| Resumen..... | IV |
| Summary..... | V |
| Tabla de contenidos..... | VI |
| Lista de cuadros y figuras..... | VII |
| 1. Introducción..... | 1 |
| 1.1. Generalidades..... | 1 |
| 1.2. Estudios en bovinos ferales..... | 1 |
| 1.3. Comportamiento y alteraciones en los sistemas intensivos de producción lechera..... | 2 |
| a) Conductas individuales..... | 3 |
| b) Organización social de los bovinos..... | 6 |
| c) Estructura social del hato | 9 |
| 1.4. Prácticas de manejo causantes de estrés en las vacas..... | 12 |
| 1.5. Respuestas fisiológicas de estrés..... | 13 |
| 1.6. Pruebas para medir la sensibilidad de la corteza adrenal..... | 16 |
| 2. Hipótesis..... | 18 |
| 3. Objetivos..... | 19 |
| 4. Material y métodos | |
| 4.1. Introducción..... | 20 |
| 4.2. Localización y sujetos..... | 20 |
| 4.3. Estudios de comportamiento..... | 22 |
| 4.4. Prueba de desafío a la ACTH..... | 29 |
| 4.5. Análisis estadísticos..... | 31 |
| 5. Resultados Estudio I. | |
| Comportamiento social y niveles de cortisol sérico en vacas con diferente número de echaderos disponibles..... | 32 |

| | |
|--|------------|
| 5.1. Interacciones agresivas..... | 32 |
| 5.2. Interacciones afiliativas..... | 33 |
| 5.3. Conductas de mantenimiento..... | 33 |
| 5.4. Prueba de desafío a la ACTH..... | 34 |
| 5.5. Relación entre conducta social y niveles de cortisol... | 34 |
| 6. Resultados Estudio 2. | |
| Comportamiento social y estrés en vacas de primer parto y | |
| multíparas..... | 36 |
| 6.1. Conducta individual o de mantenimiento..... | 36 |
| 6.2. Conducta social..... | 36 |
| 6.3. Relación entre conductas individuales y sociales | |
| de los grupos de vacas..... | 37 |
| 6.4. Prueba de desafío a la ACTH..... | 38 |
| 6.6. Relación entre variables de conducta y niveles de | |
| cortisol..... | 38 |
| 7. Discusión. | |
| 7.1. Discusión estudio 1..... | 39 |
| 7.2. Dsicusión estudio 2..... | 43 |
| 7.3. Conclusiones.y sugerencias para trabajos futuros.... | 46 |
| 8. Literatura citada..... | 48. |

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

- Apéndice I. Croquis de los grupos estabulados. Estudio 1.
- Apéndice II. Croquis del establo del Estudio 2.
- Apéndice III. Hoja de registro utilizada para comportamiento social.
- Apéndice IV. Hoja de registro utilizada para conductas de mantenimiento.
- Apéndice V. Matriz de correlación entre conductas sociales en los 4 grupos. Estudio 1.
- Apéndice VI. Correlación de los índices de competencia social, índice de afiliación y cortisol con las conductas de mantenimiento. Estudio 2.
- Figura 1. Frecuencia de topeteos y amenazas por hora en los 4 grupos. Estudio 1.
- Figura 2. Frecuencia de agresión total y afiliación por hora en los 4 grupos. Estudio 1.
- Figura 3. Porcentaje de vacas comiendo al mismo tiempo en los 4 grupos. Estudio 1.
- Figura 4. Porcentaje de vacas echadas al mismo tiempo en los 4 grupos. Estudio 1.
- Figura 5. Porcentaje de vacas en locomoción al mismo tiempo en los 4 grupos. Estudio 1.
- Figura 6. Niveles de cortisol en suero en los 3 grupos estabulados. Estudio 1.
- Figura 7. Proporción de tiempo realizando conductas de mantenimiento en vacas primíparas y multíparas. Estudio 2.
- Figura 8. Índices de competencia social en vacas de primer parto y multíparas. Estudio 2.
- Figura 9. Niveles de cortisol en suero en vacas primíparas y multíparas. Estudio 2.

1. INTRODUCCION

1.1 Generalidades. Los bovinos domésticos provienen de un ancestro común, el *Bos primigenius* extinto en el año de 1627. Los restos más antiguos se encontraron en Anatolia, datan del año 7000 A.C. De este ancestro salieron las versiones asiáticas, europeas y africanas para dar finalmente origen al *Bos taurus*, para el ganado lechero tipo europeo y al *Bos indicus* para el ganado cebú (Zeuner, 1963; Mason, 1984; Hemmer, 1990). Estos bovinos han sido domesticados para la obtención de leche, carne y pieles. Desde los inicios de su domesticación en el delta que forman los ríos Tigris y Eufrates en el año 7000 AC aproximadamente, los bovinos han presentado características de comportamiento que los han hecho especialmente susceptibles a la domesticación, como es el carácter gregario, su docilidad, su comportamiento sexual promiscuo, su facilidad para pastar en diferentes praderas y la forma en que han permitido la cercanía del hombre. Todas estas cualidades han hecho que la vaca en nuestros días sea el animal domesticado de mayor tamaño. (Mason, 1984; Hart, 1985; Hemmer, 1990).

1.2 Estudios en bovinos ferales. Los bovinos son animales altamente sociables que viven en grupos de hasta 200 individuos, donde hay siempre canales de comunicación bien establecidos (Phillips, 1993). Para poder entender la organización social de los bovinos domésticos es necesario estudiar el comportamiento de bovinos ferales. Desafortunadamente existen pocos grupos ferales en el mundo (Schloeth, 1961; Zeuner, 1963; Mason, 1984; Hall, 1989; Kabuga, 1993; Lazo, 1994), pero se han hecho estudios de vacas en condiciones de pastoreo que pueden ser útiles para entender más acerca de los patrones de conducta social heredados de la especie. La forma en cómo las

vacas lecheras se comportan socialmente es muy importante para su sobrevivencia como grupo y como especie, ya que de esta forma se protegen de sus depredadores, aprenden de sus compañeros de grupo y de sus progenitores. Las diferentes asociaciones de tipo afiliativo que se dan entre los individuos del hato, permiten al grupo mantenerse unido. De esta forma los miembros del hato gozan de las ventajas de permanecer juntos al hacer más eficientes sus conductas de mantenimiento como comer, dormir y lamerse (Fraser y Broom, 1990). Esto se conoce como facilitación social o comportamiento alelomimético, cuando un animal comienza a realizar una conducta y los otros miembros del grupo lo siguen por imitación (Nicol, 1995). Esto da como consecuencia la sincronización conductual del hato, en situaciones ideales, el 90% de los individuos del hato se encuentran haciendo lo mismo al mismo tiempo (Benham, 1992; Arnold y Dudzinsky 1985; Wierenga 1991; Galindo y Broom, 1993; Nicol, 1995). En condiciones de pastoreo, las vacas lecheras son animales gregarios muy sociables que forman grupos grandes cuyo tamaño depende de la disponibilidad de espacio y alimento (Fraser y Broom, 1990). Kabuga, (1993), encontró que el ganado N'dama del Sur de España, se asociaba en grupos de 23 a 65 individuos; en época de secas los grupos eran más pequeños y en épocas húmedas los grupos se encontraban formados por más individuos. Estos hatos a su vez se organizan en pequeños subgrupos cuyo número varía durante el día.

1.3 Alteraciones del comportamiento en los sistemas intensivos de producción lechera. Los sistemas intensivos de producción de leche se han diseñado para facilitar las prácticas de manejo como limpieza de instalaciones, alimentación, manejos reproductivos y hacer más fácil la ordeña. (Friend *et al.* 1985; Fraser y Broom, 1990; Wierenga, 1991; Wiepkema y Koolhaas, 1993). No obstante, no se han tomado en cuenta las necesidades conductuales de los animales, y se ha alterado su

comportamiento a todos los niveles. Los principales problemas de tener a los animales en confinamiento son la falta de espacio, la falta de sustrato natural y los cambios sociales como el aislamiento en los sementales y crías, la formación de grupos de un solo sexo, rango de edades corto y la formación de grupos por niveles de producción.

a) Conductas individuales. La alimentación de las vacas lecheras en pastoreo generalmente se realiza en 3 períodos durante las 24 horas del día (Kilgour y Dalton, 1985; Kabuga, 1993). No obstante, estos hábitos pueden variar según el clima y la época del año. Se ha observado que en climas tropicales, las vacas pastorean más tiempo durante la noche como una forma de protegerse del sol (Hart 1985; Phillips, 1994). También se han observado cambios en la forma de pastoreo en lugares donde hay más insectos, en estos casos se ha encontrado que las vacas tienen que disminuir su espacio individual permaneciendo juntas, para que la superficie corporal expuesta a los insectos sea menor (Kondo, 1989; Kabuga, 1993). Estrechamente relacionados con la alimentación, los períodos de rumia dependen también de la época del año, de la calidad de los forrajes y de las veces que ingieran alimento durante el día. Generalmente las vacas se echan para rumiar (Kabuga, 1993; Phillips, 1993) y para descansar. Los períodos de descanso de las vacas dependen del clima, si están estabuladas o en pastoreo, del tipo de cama y otros factores. Se han reportado de 8.4h a 10.9 /día en vacas estabuladas dependiendo del tipo de cama (Wierenga, 1991) y 11.5h /día en vacas en pastoreo (Fraser y Broom, 1990).

La cantidad de agua que bebe un bovino al día depende de muchos factores como la edad del animal, la etapa en la lactación, el clima, el tipo de alimento, el consumo de sales minerales y el tamaño de la vaca. Tomando en cuenta el agua que las vacas eliminan en heces, orina, leche y vaporización, en términos generales se deben tener

disponibles por lo menos 80 litros de agua para beber por vaca /día (Andersson, 1984).

La falta de espacio repercute negativamente en el bienestar y la salud de las vacas debido a la falta de ejercicio, ya que estos animales en condiciones de pastoreo en vida libre pueden llegar a caminar hasta 7 km diarios en busca de agua o alimentos. Krohn (1994), observó que 1 hora de ejercicio diario en las vacas estabuladas aumentaba la frecuencia de comportamientos normales y disminuía el lamido excesivo hacia las instalaciones y hacia si mismos. Otra consecuencia negativa de la falta de espacio es el aumento de la tensión social, debido a que la competencia por los recursos aumenta. Las conductas de mantenimiento como comer, dormir, descansar, beber y lamerse a si mismos, también se ven afectadas negativamente en los sistemas intensivos de producción. Las vacas de baja jerarquía social se ven en desventaja frente a otros individuos que, en caso de conflicto, no tienen suficiente espacio para huir o para protegerse de sus agresores (Bouissou, 1990; Wierenga, 1991), además de que son constantemente desplazadas de los comederos y bebederos por otros miembros del hato (Wierenga, 1994; Hasegawa, 1997). Bouissou (1980), señaló que para evitar estos problemas, los comederos deben tener espacios individuales y separados entre sí. Se han encontrado en estudios recientes a las vacas de bajo rango social esperando la oportunidad de acercarse a los comederos y a los bebederos mientras las vacas de alto rango social comen. Esto ocasiona que las vacas de baja posición social tarden más tiempo en comer ya que lo hacen en intervalos cortos y que coman y beban en cantidades insuficientes (Anderson, 1984; Hasegawa, 1997). El tipo de pisos también influye en el bienestar de los animales. Phillips (1994), encontró que las vacas alojadas en corrales con paja comían mejor y descansaban más tiempo que las vacas alojadas en pisos de cemento.

El tiempo de descanso se ve seriamente afectado en las vacas estabuladas, a pesar de que las vacas en pastoreo tienden a ser más activas. el tiempo que descansan es mayor que en confinamiento (Boivin *et al*, 1992, 1995; Singh *et al*, 1993). El diseño y el tipo de echaderos está muy relacionado con el tiempo de descanso en las vacas estabuladas. Si los echaderos son demasiado cortos, las vacas tienden a echarse de una manera diferente, y esto puede dar origen a posturas anormales como de perro sentado (Fraser y Broom, 1990, Webster, 1993). Por otro lado, se ha notado que si las vacas se levantan y se echan constantemente o están mucho tiempo paradas mientras rumian, esto puede ser un indicador de estrés y mala adaptación a las instalaciones (Metz y Mekking, 1984 y 1984b; Luescher *et al*, 1989; Munkgaard y Simonsen 1996). Un diseño inadecuado de los echaderos puede dar origen a enfermedades como mastitis y cojeras (Phillips y Schofeld, 1994; Galindo *et al*. 2000). Si los echaderos son demasiado largos (en proporción a su cuerpo), las vacas frecuentemente defecan al levantarse y las heces caen dentro del echadero, esto las predispone a padecer mastitis al echarse de nuevo en los cubículos sucios (Kilgour, 1984; Cermak, 1987; Phillips, 1993) y si son incómodos las vacas prefieren echarse en los pasillos (O'Connel, 1993; Phillips, 1993). Potter y Broom (1987, 1990), sugirieron que las vacas no solamente usan los echaderos para echarse o descansar, sino también los usan como un lugar para esconderse de otros animales y evitar interacciones agresivas. Galindo *et al*, (2000), encontraron que las vacas de baja jerarquía social, al evitar encuentros agonistas en los pasillos, permanecían más tiempo paradas dentro de los echaderos, con las patas traseras sobre los pisos húmedos, predispóniéndolas a cojeras. El hecho de que las vacas de baja jerarquía social pierdan el control sobre su entorno, resulta también en una disminución del tiempo de descanso (Metz y Mekking, 1984; Kilgour, 1994; Wierenga, 1990). Galindo y Broom (1993) encontraron que a pesar de que haya un echadero y un espacio en el comedero para cada vaca, existe una gran competencia por los lugares preferidos, provocando que

existan vacas que siempre comen y descansan menos tiempo.

Otro patrón de comportamiento que se afecta seriamente por el confinamiento es el de la facilitación social, medida por la sincronía conductual de todos los individuos del hato. Este aspecto es muy importante en el ganado bovino ya que son animales altamente sociables que tienden a sincronizar sus actividades hasta en un 100% en condiciones ideales. La ruptura de la sincronización de la conducta provocada por la falta de espacio y por el incremento de la agresión, hace que haya mucha diferencia en el tiempo que comen, descansan, duermen, beben, etcétera entre los individuos del hato (Miller y Wood-Gush, 1991; Wierenga, 1991; Galindo y Broom, 1993). Esto resulta en que algunos individuos tengan que dedicar menos tiempo del normal a comer y a descansar (Galindo y Broom, 1993), lo que repercute en su rendimiento productivo y en su estado de salud.

b) Organización social de los bovinos. El número de individuos en un hato de bovinos, en condiciones de pastoreo, puede depender de la cantidad, la calidad del alimento disponible (Arnold y Dudzinsky, 1978; Fraser y Broom, 1990), y puede variar desde 30 individuos hasta más de 300, caso en el cual, los hatos se subdividen en pequeños grupos de 15 a 20 bovinos. Se menciona que un número adecuado para que los individuos de un hato de bovinos se reconozcan entre si y puedan establecerse jerárquicamente, es de 50 a 70 individuos (Reinhardt y Reinhardt, 1975, 1981; Fraser y Broom, 1990). En los sistemas intensivos de producción lechera, generalmente el número de animales por hato es muy grande, de manera que no se reconocen y no pueden recordar el estatus social de los otros individuos del grupo. Esto causa aumento de la agresión y estrés, e imposibilita la formación de jerarquías estables (Wierenga, 1991; Fraser y Broom, 1990). Al encontrarse las vacas con restricción de espacio, los

encuentros con otros miembros del grupo son más frecuentes y las interacciones agresivas aumentan (Wierenga, 1994). Como se mencionó anteriormente, esto puede causar que los animales de baja jerarquía social (Hasegawa, 1997; Phillips, 1993; Wierenga, 1994) tengan que evadir constantemente estas interacciones debido a que no tienen espacio para huir (Kondo, 1989; Galindo y Broom, 1993).

El número de individuos por subgrupo y el número de subgrupos también dependen de los recursos disponibles en el área, ya sea alimento o agua. Se han encontrado grupos de ganado de carne de 10 a 12 individuos que se pueden unir a grupos más grandes (Kondo, 1989). En condiciones de pastoreo, cuando el agua se encuentra en un lugar cercano, en ocasiones se forman dos subgrupos, los que pastan cerca del agua y los que prefieren alejarse más (Arnold y Dudzinsky, 1978). Kabuga (1993), encontró que el ganado N'dama del Sur de España, se asociaba en grupos de 23 a 65 individuos. El mismo autor también observó que se formaban más subgrupos durante la mañana que en la tarde o la noche. Generalmente los bovinos se asocian como un grupo familiar grande de tipo matriarcado donde se forman subgrupos en su mayoría unisexuales (Hall, 1989; Kabuga, 1993; Lazo, 1994). El primer grupo social que se forma en la vida de una vaca son los llamados "crèches" que son un grupo de becerros de diferentes edades (de los 15 días a 15 semanas) y sexos que se mantienen juntos y son cuidados por una vaca "nodriza" (Kilgour y Dalton, 1984; Phillips, 1993). Mientras tanto, las vacas adultas pastorean en un hato formado solamente por hembras y se separan únicamente para alimentar al becerro (Háñez, 1975; Kilgour y Dalton, 1984). Los becerros permanecen de 10 a 15 semanas en estas crèches hasta que comienzan a cambiar su alimentación, cosa que aprenden de la madre y otras hembras adultas (Nicol, 1995). Cuando los becerros alcanzan la madurez y comienzan a formar parte de los grupos unisexuales de hembras y de machos, los individuos tienen que integrarse

socialmente, dando origen a fuertes conflictos, donde cada individuo tomará su lugar en las jerarquías del hato, formándose así las estructuras sociales (Fraser y Broom, 1990). En estos grupos de bovinos, el rango de edades varía desde 1 hasta 8 ó 9 años de edad, esto permite a los menores aprender de los bovinos adultos, aumentando así la cohesión de grupo, la sincronización del hato y la estabilidad social del mismo. En los sistemas intensivos de producción lechera, este aprendizaje no se puede llevar a cabo porque los rangos de edades son muy cortos y la estructura familiar y de grupo se pierde al aislar a los animales, afectando seriamente su comportamiento social.

El espacio individual es una característica muy importante para las vacas dentro del hato. Se puede decir que es como una especie de "burbuja" virtual que rodea a cada vaca (Kabuga, 1993). Este espacio individual puede variar según la jerarquía social, el tipo de explotación, la raza y el tipo de manejo que se les dé. Kondo *et al* (1989) notaron que las vacas de mayor jerarquía social tienen un espacio individual más grande que las vacas de jerarquía más baja. Por otro lado, en estudios posteriores también se ha encontrado que las vacas de jerarquías similares mantienen entre ellas un espacio individual más reducido (Sato, 1991; Kabuga, 1993). El espacio entre cada vaca puede variar según el tipo de raza y de explotación de que se trate. El ganado *Bos indicus* en pastoreo generalmente tiene una distancia entre individuos de 10 a 12m (Kondo *et al* 1989), mientras que en el ganado *Bos taurus* estabulado el espacio individual puede ser de 1m o menos (Phillips, 1993). Se ha mencionado, también que en momentos de emergencia o estrés, o cuando las moscas atacan a las vacas, este espacio se puede reducir hasta desaparecer (Kabuga, 1993). Phillips (1994), piensa que la posibilidad para cada animal de poder mantener su espacio individual, es probablemente el punto más importante para mantener la estabilidad social en el hato.

c) **Estructura social del hato.** Como se mencionó anteriormente, los bovinos ferales forman un grupo principalmente matriarcal donde se establecen las relaciones sociales. Dentro de este grupo se forman los rangos sociales, (Fraser y Broom 1990; Phillips 1993; Mendl y Deag, 1995), y las relaciones de dominancia que se pueden describir como relaciones lineales o triangulares en las que un individuo domina a otro (Fraser y Broom 1990, Mendl y Deag, 1995), generalmente se refieren a encuentros agresivos o agonistas que se dan entre dos individuos para la obtención de algún recurso, ya sea comida, espacio, echaderos, parejas, etc en donde el ganador es el dominante y el perdedor, el subordinado (Mendl y Deag, 1995).

Antes se pensaba que todas las jerarquías en los bovinos eran de tipo lineal, en donde un individuo A domina a B, B domina a C y así sucesivamente (Hafez, 1975; Arnold y Dudzinsky, 1978), pero en estudios posteriores, se encontró que hay jerarquías triangulares, rectangulares y otras mucho más complicadas. Cuando hay reagrupamiento o la introducción de nuevos miembros al hato, o cuando se aumenta el número de animales en el grupo la forma de las jerarquías tiende a hacerse cada vez más complicada (Haupt, 1991; Wierenga, 1990; Hart, 1992). En un hato lechero las jerarquías sociales pueden ser de una gran variedad de formas y estar cambiando constantemente, haciendo más difícil entender las interacciones sociales en un grupo de bovinos. Además de esto, Wierenga (1991), encontró que generalmente en los hatos lecheros son muy escasos los animales que no son dominados por otros compañeros de grupo, como también es muy extraño encontrar animales que son dominados por todos los miembros del hato. Algunas vacas tratan de subir su estatus social a un costo muy alto, muchas veces, estos animales se encuentran más estresados que los de baja jerarquía social (Mendl *et al.*, 1992; Drews, 1993), incluso mantener una jerarquía alta representa un gasto elevado de energía (Sapolsky, 1990; Drews, 1993; Hopster, 1998). En algunos casos los

individuos de alta jerarquía pueden afectar incluso el comportamiento reproductivo de los de baja jerarquía (Phillips, 1993; Mendl y Deag, 1995). Uno de los factores que determinan la jerarquía social en los bovinos es la edad (Fraser y Broom, 1990; Mendl, *etal*, 1995; Hopster, 1998), la cual está relacionada directamente con el peso y el tamaño de la vaca (Webster, 1993). Se ha observado que las vaquillas jóvenes de primer parto son más débiles y presentan más enfermedades que las vacas multíparas, por lo que hay que tener especial cuidado con ellas en el manejo y la ordeña. (Kitgour y Dalton, 1985; Webster, 1993; Galindo y Broom, 1993; Hopster, 1998). Por esta razón, algunos productores las separan en grupos especiales. Las vaquillas recién paridas que son introducidas por primera vez al hato de producción lechera, tienen que competir con vacas más fuertes y experimentadas por los recursos, como alimentos, lugares de descanso, agua, etcétera, pudiéndoles ocasionar mayor estrés social. En cambio, los bovinos adultos han aprendido técnicas para mantener su estatus social más eficientemente (Hart, 1985; Fraser y Broom, 1990; Webster, 1993) sin la necesidad de ser tan agresivos y vivir el estrés que representa un encuentro agonista (Sapolsky, 1989).

El temperamento individual de cada vaca está muy relacionado con el estatus social que ocupa dentro del hato. Una vaca muy agresiva, por ejemplo, aunque sea joven, puede "ganar" su posición social más rápidamente que una vaca no tan agresiva (Friend, 1991). La agresividad puede ser una característica heredable, probablemente así se pueda explicar que la posición social también se puede pasar a las crías, se ha encontrado que si la madre tenía una posición social alta dentro del grupo, es muy probable que las crías tiendan a tenerla también, aunque no se le ha dado mucha importancia a este punto dentro de los estudios de comportamiento de los bovinos (Mendl y Deag, 1995). Se ha encontrado en estudios realizados con vacas gemelas idénticas y puestas en diferentes hatos que ambas tienden a tener la misma jerarquía

social (Friend, 1991). Wierenga (1994), notó que el hacinamiento no cambia la posición social de las vacas, pero la hace más agresivas en general. Cuando las vacas se encuentran hacinadas se dan condiciones de falta de predicción del medio que las rodea (Fraser y Broom, 1990), en este caso las jerarquías sociales se hacen más inestables y más complicadas (Wierenga, 1994). Al establecerse las jerarquías sociales en el hato, se reducen las interacciones agresivas, en un grupo estable, pueden mantenerse por mucho tiempo. Sin embargo, Wierenga (1990), observando un grupo de vacas durante 3 años, observó que se dieron cambios en la jerarquía en un 6.8% durante el primer año, 26.1% en el segundo año y 23.8% en el tercer año. Con estos estudios podemos concluir que las jerarquías dentro de un hato de vacas lecheras es algo que está cambiando constantemente, pero con bajas frecuencias.

En la medida en que un grupo forma sus jerarquías sociales, se dice que es más estable psicológicamente y socialmente (Fraser y Broom 1990). Generalmente se ha estudiado el establecimiento de jerarquías sociales en el ganado bovino, basados en la dominancia con interacciones agonistas o agresivas (topeteos, empujones, desplazamientos, amenazas), sin embargo se ha notado que las relaciones afiliativas juegan un papel muy importante en la formación de estas jerarquías y por lo tanto en la cohesión del grupo (Hart, 1991; Sato, 1993). Se ha estudiado las interacciones afiliativas en el ganado bovino enfocándose la mayoría de las veces al lamido social, que se puede definir como la acción de una vaca de lamer el cuerpo de otra vaca (Samraus 1969; Wood *et al*, 1977; Hart, 1985). No obstante, se ha mencionado la existencia de otras interacciones afiliativas en las vacas como oler nariz con nariz y oler otras partes del cuerpo (Hart, 1985; Friend, 1991, Sato *et al*, 1993; Phillips, 1993; Mendl *et al*, 1992). Las primeras asociaciones afiliativas que se forman durante la vida de los bovinos son entre la madre y la cría (Sato *et al*, 1991; Wierenga, 1995), posteriormente se forman

grupos de 2 a 5 individuos que generalmente son parientes y de edad similar (Reinhardt y Reinhardt, 1981; Sato *et al.*, 1993). En vacas adultas, estas asociaciones pueden durar muchos años (Wierenga, 1991; Sato *et al.*, 1991). El lamido social tiene la función muy importante de limpieza y reconocimiento de los individuos del hato (Fraser y Broom, 1990; Hart *et al.*, 1992; Sato *et al.*, 1993; Blowey, 1996; Takeda *et al.*, 1997). Sato *et al.* (1991), encontraron que en el ganado *Bos taurus*, el 78% de las veces solicitan ser lamidas a otras compañeras del grupo, cuando el lamido es solicitado, las vacas se lamen durante más tiempo. El lamido parece jugar un papel muy importante en la formación de las jerarquías sociales dentro del hato y en la disminución de la agresión, por lo que aumenta la estabilidad social y psicológica del mismo (Sambras, 1969; Albright, 1981; Hart, 1985; Fraser y Broom, 1990; Sato *et al.*, 1993; Takeda *et al.*, 1997).

1.4 Prácticas de manejo causantes de estrés en las vacas. Dado que los bovinos son animales altamente sociables, el aislamiento es una de las prácticas de manejo que puede causar estrés a las vacas lecheras (Fraser y Broom, 1990). Semanas antes de parir, la vaca es aislada del grupo ocasionándole falta de predicción en su entorno físico. El parto en sí, está acompañado de cambios endocrinos y dolor, creando una falta de control de su medio. En los primeros 3 días después del parto, la cría es separada de su madre y la vaca recién parida es introducida al hato de producción; su posición social en el hato ha cambiado y tiene que competir para establecerse socialmente (Wierenga, 1990). Si todo esto le sucede a una vaca primeriza, el estrés puede ser aun mayor. (Singh, 1993; Webster, 1993). Este estrés se debe principalmente a que se crean nuevas relaciones de dominancia y se deben establecer nuevas jerarquías sociales, aumentando así la agresión en el hato. Hasegawa *et al.* (1997) observaron en un estudio donde se reagruparon vaquillas de primer parto, que todos los miembros del hato sufrieron por el reagrupamiento, la agresión aumentó considerablemente y disminuyó

hasta pasados 9 días. Algunos autores piensan que se necesitan de 30 a 45 días para que el hato se establezca socialmente otra vez (Sato, 1990; Fraser y Broom, 1990). Mench *et al* (1990), encontraron que las vacas de baja jerarquía social, presentaban una mayor respuesta fisiológica al estrés que el resto del hato todavía a los 84 días después del reagrupamiento. Otras prácticas de manejo también causantes de estrés en las vacas son: el hacinamiento (Alam y Dobson, 1986; Barnett y Hemsworth, 1990; Friend, 1991; Hemsworth *et al*, 1995), Wierenga, 1994), el confinamiento (Ladewing y Smidt, 1989; Hsieh *et al*, 1993; Muskgaard y Simonsen, 1996), el transporte (Zavy *et al*, 1992; Grandin *et al*, 1994; Lay *et al*, 1996), el descornado (Morisse, 1995), el marcaje con fierro caliente o frío (Lay *et al*, 1992a, 1992b, 1992c), la palpación rectal (Alam y Dobson, 1986) y la punción con aguja hipodérmica (Alam y Dobson, 1986; Mench *et al*, 1990; Mendl *et al*, 1992. Lay *et al*, 1996; Hopster, 1998).

1.5 Respuestas fisiológicas de estrés. El estrés es definido por Broom y Johnson (1993) como "el efecto medioambiental sobre un individuo que sobrepasa sus sistemas de control y puede reducir su habilidad inclusiva". La habilidad inclusiva es la capacidad de los individuos para transmitir sus genes a otras generaciones, está dada por el número de crías y la supervivencia de éstas.

A principios del siglo XX, Cannon identificó una hormona producida por las glándulas adrenales que preparaba al organismo para huir o pelear, era la adrenalina. En los años cuarenta se identificó a la noradrenalina y se observó que era producida por las glándulas adrenales, la liberación de ambas hormonas es estimulada por diferentes partes del hipotálamo y esta estimulación puede mantenerse por varios días después de su liberación inicial (Craig, 1981; Moberg, 1983). Posteriormente Selye (1955), descubrió el síndrome del estrés, el encontró que inyectando extractos de glándula adrenal en ratas,

aumentaba el tamaño de la corteza adrenal, se atrofiaba el tejido linfático y se hacían úlceras sangrantes en estómago y duodeno. Selye dividió este síndrome en 3 fases: 1- Reacción de alarma, donde se producen adrenalina y noradrenalina, 2- Estado de resistencia, donde el animal aparentemente se adapta pero está propenso a aumentar su estrés con un estímulo menor que el original y 3- Estado de fatiga, cuando el animal ya no se pudo adaptar, se enferma y muere. Según la duración del estrés, puede dividirse en agudo y crónico (Hopster, 1998). Se puede decir que el estrés agudo corresponde a la primera etapa que definió Selye donde se producen catecolaminas (adrenalina y noradrenalina) en la médula adrenal y aumento de la presión sanguínea y la frecuencia cardíaca (Moberg, 1983; Broom y Johnson, 1993; Hopster, 1998). Después de la primera reacción de alarma se presentan las respuestas fisiológicas de adaptación que corresponden al estrés crónico, en esta etapa se producen glucocorticoides y se dan cambios como el aumento del catabolismo proteico, disminución de los ácidos grasos, aumento del azúcar sanguíneo, atrofia de los órganos linfáticos, disminución de células leucocitarias y anticuerpos, disminución de la capacidad reproductiva y pueden presentarse úlceras en el estómago y duodeno. (Craig, 1981; Broom y Johnson, 1993).

La capacidad de adaptación al estrés está regulada por péptidos cerebrales como endorfinas, encefalinas, dinorfinas, hormona liberadora de la corticotropina (CRH) y otras hormonas como las catecolaminas, hormona adrenocorticotrópica o corticotropina (ACTH) y corticosteroides. Las respuestas fisiológicas de estrés crónico involucran principalmente al eje hipotálamo hipófisis corteza adrenal (H-H-A) (Dantzer, 1980; Craig, 1981; Wood-gush, 1983; Broom y Johnson, 1993). El factor liberador de la corticotropina (CRH) es producido en el hipotálamo por las células del núcleo paraventricular y llega a la hipófisis aumentando la secreción de ACTH (Von Borrel, 1994). La ACTH tiene como función activar la corteza adrenal para que se produzcan

glucocorticoides y se realice la gluconeogénesis. Si el factor causante de estrés es crónico y la actividad de la corteza adrenal prolongada, los glucocorticoides pueden tener un efecto negativo sobre diferentes procesos que se relacionan con inmunodepresión y fallas reproductivas.

Se han usado varias hormonas para medir el estrés agudo, (Craig y Craig, 1984; Broom y Johnson, 1993), como las producidas por la médula adrenal (adrenalina y noradrenalina) y metabolitos de éstas. Se han medido sus niveles en plasma, suero y orina, notando que su vida media es más corta que las hormonas producidas por la corteza adrenal, como los glucocorticoides. El glucocorticoide de mayor importancia en mamíferos es el cortisol (Dantzer y Mormède, 1983; Craig y Craig, 1984; Barnett y Hemsworth, 1990; Friend, 1991). Esta hormona se ha utilizado para evaluar estrés agudo y crónico, cuando las pruebas de ELISA y RIA no existían, se medía en la orina un derivado de estas hormonas, el 17- hidroxicorticosterona. Además del cortisol, se han utilizado algunas hormonas reproductivas como indicadores de estrés crónico (prolactina y LH), algunas respuestas del sistema inmunológico (linfocinas, inmunoglobulinas, número de células blancas) y algunos opioides como las beta endorfinas.

En vacas, se ha observado en varios estudios, que los niveles sanguíneos de cortisol pueden variar dependiendo de varias situaciones. Aumentan progresivamente, en correlación positiva con el aumento en la producción láctea, de las 7 a 10 semanas de la lactancia (Harrison, 1989; Radchenkov *et al*, 1988; Sartin *et al*, 1988), están relacionados también con la dieta, (Heath *et al*, 1981; Radchenkov *et al*, 1988), el cortisol aumenta cuando las vacas consumen más grano en el invierno y disminuye cuando las vacas consumen más pasto durante el verano. La etapa del ciclo estral también influye en los niveles de cortisol, Heath *et al* (1981) y Thun *et al* (1985) encontraron que

los niveles de cortisol en sangre aumentaron durante el estro. La producción de cortisol tiene un marcado ritmo circadiano en los bovinos, se produce más cortisol durante el día y menos durante la noche y los períodos de descanso, esto también está influido por las horas luz y por la profundidad del sueño en las vacas (Hudson, 1975; Thun, 1985). En general se han encontrado niveles más altos en los animales de baja jerarquía social (Mendl *et al.*, 1992; Hasegawa, 1997), ésto está también muy relacionado con las estrategias individuales de comportamiento, donde los individuos activos (agresivos) están más propensos a sufrir estrés agudo y problemas cardíacos y los individuos pasivos a sufrir estrés crónico (Mormède, 1983; Lawrence *et al.*, 1991; Galindo y Broom, 1993; Manteca y Deag, 1994; De Boer y Bohus, 1997; Koolhas *et al.*, 1997; Hopster, 1998). Las prácticas de manejo causantes de estrés también influyen en los niveles de cortisol. En todos los casos mencionados anteriormente la experiencia y la habituación al estrés son un factor determinante en los niveles de cortisol, en general, las vacas con más experiencia muestran niveles más bajos durante el manejo (Veissier y Le Neindre, 1988; Lay *et al.*, 1996; Hopster and Blockhuis, 1994a; Hopster, 1998).

1.6 Pruebas para medir la sensibilidad de la corteza adrenal. Para saber como la corteza adrenal ha respondido al estrés crónico produciendo cortisol consecuentemente, se ha utilizado una dosis fisiológica de ACTH, lo que se conoce como prueba de desafío a la ACTH (Friend, 1991; Mendl *et al.*, 1992; Lay *et al.*, 1996; Hopster, 1998). Esta prueba se basa en que los animales que han sufrido más estrés crónico, tienen la corteza adrenal aumentada de tamaño y por lo tanto producirán más cortisol, como respuesta a la administración de la ACTH. Este método tiene la ventaja de evitar interferencias debidas a variaciones del ritmo normal de liberación de cortisol y muchas situaciones que pueden cambiar los patrones de liberación del mismo, como los mencionados anteriormente. Además, otra ventaja de esta prueba es que permite obtener

más cortisol de cada individuo en experimentación como respuesta a la aplicación de la ACTH (Zavy *et al*, 1992; Lay *et al*, 1996), facilitando su detección y evaluando la actividad de su corteza adrenal.

Los primeros estudios con la prueba de desafío a la ACTH en bovinos fueron realizados por Friend *et al* (1977), con diferentes niveles de hacinamiento en vacas. También Dantzer y Mormède (1983), encontraron que los becerros más hacinados presentaban niveles de cortisol más elevados y Zavy *et al* (1992). Ellos utilizaron esta prueba para medir niveles de cortisol en vacas de diferentes razas productoras de carne durante el manejo del transporte y destete. Por otro lado, Mendl *et al*, (1992), relacionaron el comportamiento social con los niveles de cortisol en cerdas, dividiéndolas según su grado de agresividad en exitosas (agresivos), no exitosas (inactivos) y poco exitosas (medianamente agresivos), encontrando que estos últimos tenían niveles de cortisol más elevados, menos lechones nacidos vivos y de menor peso. También Hasegawa *et al* (1997), utilizando esta prueba relacionaron los niveles de cortisol en sangre con la jerarquía social de vacas y su producción de leche después del reagrupamiento, dividiendo a las vacas en dominantes, mediano rango social y subordinadas. Asimismo, Lay *et al*, (1996), observaron en vacas cebú de la raza Brahman gestantes, como cambian los niveles de cortisol en sangre con diferentes dosis de ACTH. Todos los estudios mencionados anteriormente nos sugieren que hasta la fecha la prueba de desafío a la ACTH es una herramienta válida para evaluar la capacidad de la corteza adrenal para producir cortisol. Debido a que los sistemas intensivos de producción afectan las conductas de los bovinos a todos los niveles, es necesario realizar estudios sobre el comportamiento social y de mantenimiento de las vacas en estas condiciones y evaluar que relación tienen estas conductas con la capacidad de producir cortisol al desafío con ACTH.

2. HIPOTESIS.

2.1- La frecuencia de agresión en grupos de vacas con menor disponibilidad a echaderos aumenta y se relaciona con un menor grado de sincronía del hato, así como con mayores niveles de cortisol.

2.2- Al tener menor éxito en la competencia social, las vacas de primer parto dedican más tiempo a caminar y tienen mayores niveles de cortisol que las vacas multíparas.

3. OBJETIVOS.

3.1- Objetivo general: Relacionar el comportamiento social e individual de los bovinos lecheros estabulados con la actividad del eje hipotalámico adrenocortical.

3.2 - Objetivos específicos.

Estudio 1:

3.2.1- Evaluar el grado de sincronización de conductas de mantenimiento en hatos de vacas con diferente disponibilidad a echaderos.

3.2.2- Comparar la frecuencia de interacciones afiliativas y agresivas así como los niveles de cortisol en hatos de vacas lecheras estabuladas con diferente disponibilidad a echaderos.

Estudio 2.

3.2.3 - Comparar la frecuencia de interacciones agresivas, afiliativas, la proporción del tiempo en conductas de mantenimiento y los niveles de cortisol en vacas lecheras estabuladas de primer parto y múltiparas.

3.2.4 - Relacionar los patrones de conducta social e individual con los niveles de cortisol en vacas de primer parto y múltiparas.

4. MATERIAL Y METODOS

4.1 Introducción. Este capítulo está dividido en 4 partes. La primera se refiere a las características generales de los 2 ranchos y a los animales que se estudiaron. La segunda incluye los estudios de comportamiento y la metodología de observación. La tercera parte se refiere a la prueba de desafío a la ACTH utilizada para evaluar estrés crónico y la parte final describirá los análisis de datos y las pruebas estadísticas que se utilizaron.

4.2 Localización y sujetos. Estos estudios fueron realizados con vacas lecheras de la raza Holstein-Friesian en 2 ranchos; uno de ellos pertenece a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM (Rancho 1) y el otro es particular (Rancho 2). Los dos ranchos se encuentran localizados en el municipio de Cuautitlán Izcalli, Estado de México, situado a 19° 43' de latitud norte, 99° 09' de latitud Oeste y a 2,310 m sobre el nivel del mar. El clima es templado semiseco con lluvias en el verano. El manejo de estos ranchos incluye descornado, inseminación artificial, pruebas periódicas para la detección de mastitis, recortado de pezuñas y cuidado de las patas (4 veces al año), vacunaciones (vacuna triple que protege contra carbón sintomático, edema maligno y pasteurelosis, 2 veces al año, antes y después de la temporada de lluvias) y se realizan desparasitaciones internas 2 veces al año. En ambos las vacas se ordeñaban mecánicamente 2 veces al día.

Rancho 1. Se encuentra localizado en Tepetzotlán, Estado de México. El estudio se realizó durante los meses de septiembre a noviembre de 1996. En este rancho se observaron 40 vacas de la raza Holstein-Friesian de entre 2 y 8 años de edad, divididas aleatoriamente en 4 grupos de 10 vacas cada uno, 3 de ellos en confinamiento y un grupo

en pastoreo (Apéndice I). El grupo 1 (1P) en pastoreo constó de 11 vacas, los 3 grupos restantes se encontraban en confinamiento con las siguientes características: el grupo 2C en confinamiento se encontraba formado por 10 vacas con 20 echaderos disponibles (proporción 2:1). El grupo 3C constaba de 10 vacas con 10 echaderos disponibles (proporción 1:1). El grupo 4C estaba formado por 10 vacas con 5 echaderos (proporción 1:2). Los echaderos restantes se cerraron con barras de metal para evitar el acceso de las vacas a éstos. La ordeña se realizaba a las 6:00 y a las 18:00 horas, se desplazaban a la sala de ordeño situada a 15 m del corral y al terminar eran regresadas al corral. El grupo de pastoreo también era ordeñado dos veces al día teniendo que recorrer 150 m para llegar a la sala de ordeño y al finalizar ésta eran regresadas a la pradera. Los 3 grupos estabulados fueron alojados en un establo con piso de concreto, su limpieza se realizaba 2 veces al día manualmente usando palas y una carretilla durante la ordeña. Contaban con comederos de madera en el piso y comederos de metal a una altura de 1 m del piso para el concentrado. Ambos comederos fueron fabricados exclusivamente para este estudio. Los echaderos medían 1.20m x 2.15m son hechos de concreto con camas de arena y separados por barras de metal. Todos los echaderos se encontraban techados con láminas de asbesto. Cada uno de los corrales contaba con su propio bebedero de 2m x 1m siempre con agua limpia y suficiente para las vacas.

Al grupo de pastoreo se le dotó de un bebedero circular de 1 m de diámetro x 1m de profundidad. El área de pastoreo estaba delimitada por un cerco eléctrico y dentro de la pradera había varios árboles que daban suficiente sombra a las vacas.

La alimentación de los grupos confinados consistía de alfalfa achicalada recién cortada y concentrado que se les administraba 2 veces al día. El grupo de pastoreo se alimentaba en forma rotativa en una pradera de pastos mixta de "Rye Grass".

Rancho 2. Este estudio se realizó en el rancho "Las Margaritas" localizado en el municipio de Cuautitlán Izcalli, durante los meses de junio y julio de 1997. Se observaron 30 vacas de la raza Holstein-Friesian, pertenecientes a un hato de 60. Para este estudio se formaron dos grupos, el grupo 1 con 15 vacas de primer parto de 2 años de edad y el grupo 2 de vacas multíparas de entre 4 a 7 años de edad (5.5 años en promedio). El hato de 60 vacas estaba alojado en un edificio de 40m x 10m con pisos de concreto. Contaba con 30 echaderos de 1.40 x 2.20m, techados con lámina de asbesto, un comedero de concreto colocado a 1 m de altura del piso de 30m x 80cm y un bebedero de concreto de 1m x 1m. Las vacas se ordeñaban a las 4:00 y a las 16:00 horas, y eran llevadas a un patio contiguo por espacio de 2 horas (de 13:00 a 15:00 horas). Las instalaciones eran limpiadas diariamente 3 veces al día cuando las vacas no se encontraban en el corral. La alimentación era *ad libitum* basándose en alfalfa achicalada, henificado y concentrado (Apéndice II).

4.3. Estudios de comportamiento. Se hicieron registros de conducta social e individual en los 2 ranchos. Para este propósito se utilizó un etograma diseñado por Galindo (1994) con adaptaciones para cada uno de los ranchos. Para validar este etograma, se realizó un estudio con 75 horas de observación directa en el rancho "La Cotera", en el municipio de Chalco, Estado de México.

Lista de patrones de conducta a registrar:

Comportamientos no interactivos. Estas conductas se refieren a comportamientos de mantenimiento.

1-Echada en el cubículo (EC). Vaca echada con todo el cuerpo dentro del cubículo.

- 2-Echada fuera del cubículo (Efc). Vaca echada fuera del cubículo.
- 3-Echada (E). Vaca echada en pastoreo (solamente grupo de pastoreo).
- 4-Paradas a la mitad (PM). Vaca parada con las patas delanteras en el echadero y las patas traseras en el pasillo.
- 5-Paradas en el cubículo (PC). Vaca parada con las 4 patas dentro del cubículo
- 6-Comiendo (Co). Vaca con la cabeza dentro del comedero.
- 7-Bebiendo (B). Vaca tomando del bebedero.
- 8-Caminando (Ca). Vaca caminando por el corral o en la pradera.

Comportamientos interactivos. Interacciones agresivas, evasivas y de lamido social. Estos comportamientos se refieren a la agresión, evasión y pacificación que ocurren en las interacciones entre miembros de la misma especie.

a) Interacciones sociales agresivas:

- 1-Seguir (S). Vaca que se mueve hacia otro individuo seguido por el hecho de que éste camine o huya.
- 2-Amenazar (A). Vaca que voltea hacia o se acerca a otro individuo con la cabeza bajada y embiste sin tener contacto con la otra vaca.
- 3-Topetear cabeza con cabeza (TC-C). La vaca hace contacto cabeza con cabeza con otra vaca.
- 4-Topetear al cuello (TCII). Las vacas usan la frente para hacer contacto con el cuello de otra vaca.
- 5-Topetear las costillas (Tcos). Las vacas usan la frente para hacer contacto con el costado de otra vaca.
- 6-Topetear los flancos (TF). Las vacas usan la frente para hacer contacto con el flanco de otra vaca.

7-Ignorar (I). La vaca no muestra ninguna respuesta al comportamiento social de otro individuo dirigido hacia ella.

8-Evadir (E). La vaca se retira de otro individuo en respuesta a la conducta que este emite.

b) Interacciones sociales no agresivas. Estas son interacciones sociales que no están relacionadas con agresividad o evasión: afiliativas, de estas interacciones se estudió frecuencia y duración.

Lamer: la vaca pone la lengua sobre el cuerpo de otra vaca.

1-Lamer cabeza (AC).

2-Lamer cuello (Acll).

3-Lamer flanco (AF).

4-Lamer rabo (AR).

5-Lamer lomo (AL).

6-Lamer pata (AP).

7-Solicitar lamido (SA). La vaca acerca cualquier parte de su cuerpo a la nariz de otra vaca en actitud sumisa.

Oler: la vaca pone la nariz sobre el cuerpo de otra vaca.

8-Oler cabeza (OC).

9-Oler cuerpo (Ob). La vaca pone su nariz sobre cualquier parte del cuerpo de otra vaca, excepto cabeza, ano y nariz.

10-Oler ano (OA).

11-Oler nariz con nariz (On-n). La vaca pone la nariz en la nariz de otra vaca.

12-Recargar cabeza en el cuello (RC-cll). La vaca pone su cabeza en el cuello de otra vaca.

13-Recargar cabeza en las costillas (RC-cos). La vaca pone su cabeza en las costillas de otro individuo.

14-Rascarse cabeza con cabeza (RsC-C). La vaca talla la cabeza en la cabeza de otra vaca.

15-Rascarse cabeza con el cuerpo (Rs C-b). La vaca talla su cabeza con el cuerpo de otro individuo.

17-Recargar cabeza con cabeza (RC-C). La vaca pone su cabeza sobre la cabeza de otra vaca.

18-Montar (M). La vaca monta la grupa de otro individuo.

En ambos estudios se midió la frecuencia de agresiones con contacto físico, en este caso topeteos, sumando todos los tipos de topeteos que aparecen en el etograma, la frecuencia de agresión sin contacto físico (amenazas) y la agresión total. Asimismo se observaron conductas afiliativas (lamido social, recargarse unas con otras, oler a otros miembros del hato), el lugar donde se realizaron y si se dieron antes o después de comer.

Consecuencia de las interacciones sociales.

1-Desplazamiento (D). La vaca receptora de la interacción social es desplazada de forma inmediata (no más de 3 segundos) del lugar que estaba ocupando.

2-Nuevo comportamiento (NC). El emisor o el receptor realizan un comportamiento nuevo no listado en este etograma después de la interacción en un tiempo no mayor de 3 seg.

3-Fin del comportamiento (F). La vaca deja de hacer el comportamiento que estaba realizando en un tiempo no mayor de 3 segundos.

Procedimientos para hacer las observaciones, horarios y recolección de datos. A todas las vacas se identificaron con collares de plástico fabricados especialmente para este estudio con números en las partes laterales para su fácil

identificación. En el rancho 1, además de los collares se marcaron las vacas con números en los costados pintados con pintura de aceite. Para el grupo de pastoreo de este mismo rancho se utilizó pintura fluorescente y los collares contaban con números de material reflejante para las observaciones nocturnas. En el rancho 2 las observaciones se hicieron usando una plataforma de madera de 3.5m de altura fabricada expresamente con este fin, se colocó fuera del corral en los pasillos de alimentación (Apéndice II). Para evitar que las vacas cambiaran su comportamiento por la presencia del observador, las observaciones se hicieron en forma silenciosa, moviéndose lo menos posible y usando ropas oscuras. En el rancho 1 las observaciones directas se hicieron siempre desde una barda que se encontraba dentro de los corrales (Apéndice I). En los 2 ranchos se utilizaron binoculares para facilitar la identificación de los animales y un cronómetro para medir la duración de algunas interacciones afiliativas. Al observar directamente a las vacas para conducta social se dividieron los corrales en zonas de observación, observando todos los animales dentro de cada una de ellas durante 5 minutos. Para tomar los datos de las observaciones de conducta social y de mantenimiento se utilizaron las hojas de registro que se muestran en lo Apéndices III y IV respectivamente.

Estudio 1. Se observaron directamente 40 vacas para recolectar datos sobre conducta social utilizando las hojas de registro mencionadas anteriormente. Las observaciones directas se hicieron durante 4 horas a lo largo de 15 días dando un total de 60 horas de observación. El sistema que se utilizó para observar a los grupos estabulados fue observando 5 minutos a todos los animales de cada grupo, hasta completar un total de 4 horas diarias, siempre con el horario de 9:00 a 13:00 h. En el grupo de pastoreo se hicieron 6 horas de observación diarias para conducta social y para conductas de mantenimiento, haciendo rotaciones para obtener datos sobre las 24 horas del día (Martin y Bateson, 1994). El primer día se observó de 6:00 a 12:00 h, el segundo día de 12:00 a

18:00 h, el tercer día de 18:00 a 24:00 h, el cuarto día de 24:00 a 6:00 h y así sucesivamente hasta completar 5 días. Durante las 6 horas de observación diarias se hizo un muestreo de barrido cada 10 minutos para conductas de mantenimiento, consistiendo en anotar la conducta estaba desarrollando cada vaca en ese momento. Las vacas en pastoreo se observaron durante 30 horas en total.

Observaciones indirectas. Se utilizaron 3 cámaras de video y una videograbadora de intervalos de tiempo fijo para tomar información sobre la sincronización de las conductas de mantenimiento en cada uno de los 3 grupos confinados, haciendo un total de 216 horas de grabación en videos. Se midió la sincronización del comportamiento en los 4 grupos.

Estudio 2. Se observaron 30 vacas adultas de la raza Holstein Friesian, 15 de primer parto y 15 multíparas dentro de un hato de 60 vacas. Todas las observaciones fueron directas. Para recolectar datos sobre conducta social se observaron a las vacas 6 horas diarias, de 8:00 a 14:00 h durante 15 días, sumando un total de 90 horas. Las conductas de mantenimiento se observaron durante 6 horas diarias haciendo rotaciones para obtener datos sobre las 24 horas del día. Se tomaron las conductas individuales de cada una de las 30 vacas cada 10 minutos durante las 6 horas diarias de observación a lo largo de 15 días. Las observaciones nocturnas se realizaron con ayuda de focos de luz roja /infrarroja situados a lo largo del corral.

En este estudio se calcularon los índices de dominancia (índice de éxito e índice de desplazamiento). El índice de desplazamiento se refiere al número de veces que el individuo desplaza y el índice de éxito se refiere al número de individuos que es capaz de

desplazar, éstos índices nos indican que tan dominante es un individuo. También se calculó el índice de afiliación. (Mendl *et al* . 1992, Galindo, 1993).

Cálculo de los índices de comportamiento.

Índice de desplazamiento (ID)= $\frac{\text{No. de veces que desplaza}}{\text{No de veces que desplaza} + \text{No de veces que es desplazada.}}$

Índice de éxito (IE)= $\frac{\text{No. de individuos que desplaza}}{\text{No de individuos que desplaza} + \text{No de individuos que la desplazan.}}$

Índice de afiliación (Iafil)= $\frac{\text{No. de veces que emite afiliación}}{\text{No. de veces que emite afiliación} + \text{No. de veces que recibe afiliación.}}$

Se hicieron cálculos de la proporción del tiempo de las conductas individuales y la frecuencia relativa con que se presentan eventos de conductas mediante la siguientes fórmulas:

Proporción del tiempo = $\frac{\text{No. de barridos de la conducta}}{\text{total de barridos.}}$

Frecuencia relativa = $\frac{\text{No. de eventos de la conducta}}{\text{horas de observación.}}$

Usando estas fórmulas se midieron las siguientes proporciones de tiempo: 1- proporción de tiempo comiendo durante las 24 horas, comiendo de día (de las 7:00 a las 19:00 h), comiendo de noche (de las 19:00 a las 7:00h); 2- bebiendo durante las 24 horas, bebiendo de día y de noche; 3- caminando durante las 24 horas, caminando de día y de noche; 4- echadas durante las 24 horas, echadas de día y de noche y el lugar donde se echan, pasillos, pasillos de los echaderos, echaderos; 5- paradas durante las 24 horas, de día, de noche y el lugar donde permanecían paradas (echaderos, pasillos de los echaderos, bebederos y comederos).

4.4 Prueba de desafío a la ACTH. Después de los periodos de observación se realizó en los dos ranchos la prueba de desafío a la ACTH para medir la actividad de la corteza adrenal. Es recomendable que la ACTH sea inyectada entre las 21:00 y las 23:00h, para no interferir con los ciclos circadianos de los glucocorticoides (Thun *et al.*, 1985, Hopster y Blokhuis, 1994a). En el Estudio 1, el último día de observaciones directas, se metieron las vacas a una manga de manejo en el orden que llevaban por número de identificación (grupos 2C, 3C y 4C consecutivamente). Para evaluar la curva de liberación de cortisol, se tomaron 4 muestras de sangre (3ml c/u), 1 hora antes de la administración de la ACTH (-1hr), al mismo tiempo que la inyección de ACTH (0 h), 60 min (+1 h) y 90 min (+1.5h) después de la administración de la misma (Lay *et al.*, 1996). Se contó con 5 personas para realizar el sangrado, una arreaba a las vacas, otra manejaba la prensa situada al final de la manga de manejo, otra persona tomaba la muestra de sangre de la vena coccígea, otra persona administró la ACTH en la vena yugular y otra persona recibía e identificaba las muestras de sangre. Las vacas que salían de la manga de manejo, se quedaban por grupo en 2 corrales contiguos a la manga de manejo, de manera que los grupos no se mezclaban entre sí. Por cuestiones logísticas, la prueba de desafío a la ACTH no se llevó a cabo en el grupo de pastoreo. Las muestras de sangre fueron

extraídas con vacutainer sin anticoagulante, a los 10 min. de tomadas fueron centrifugadas (5000 revoluciones/min.), se tomó el suero para congelarlo a -25°C y posteriormente se hicieron las pruebas de medición de cortisol con la técnica de radioinmunoensayo usando un kit comercial (Cout-a-Count de laboratorios DPC). La ACTH utilizada fue de laboratorios Sigma (ACTH 1-39; Corticotropin A, de glándula pituitaria porcina) reconstituida en agua inyectable estéril y refrigerada 3 horas antes de su aplicación. La dosis utilizada fue de 0.3UI/Kg de peso.

En el Estudio 2, el último día de observaciones se realizó la prueba de desafío a la ACTH. Debido a que no se contaba con manga de manejo, las 30 vacas se sujetaron a los comederos, llevando el orden de identificación que tienen sus collares. Se tomaron 7 muestras de sangre en diferentes tiempos para cada vaca, 1 hora antes de la administración de la ACTH, al mismo tiempo que la inyección de ACTH y 30, 60, 90, 120 y 210 minutos después de la administración intravenosa de la misma. Para realizar este sangrado se contó con 6 personas, dos de ellas extrajeron la sangre de la vena coccígea de las vacas comenzando al mismo tiempo cada uno con las vacas primíparas y múltiparas, 2 personas más recogían las muestras y preparaban la jeringas y vacutainers previamente identificados y otras dos personas preparaban y administraban la ACTH y centrifugaban las muestras. El procedimiento de extracción, centrifugación y congelación de las muestras se realizó de la misma manera que en el primer estudio. En el Estudio 2 se utilizó también ACTH de la glándula pituitaria porcina (Laboratorios Sigma ACTH 1-39, Corticotropin A) a una dosis de 0.11 UI/kg de peso.

En el laboratorio, se realizó el ensayo para medición de cortisol en los estudios 1 y 2, mediante el método de Radio Inmuno Análisis (RIA) (Lay *et al.*, 1996). Se tomaron 25 microlitros de suero de cada tubo, previamente descongelado a temperatura

ambiente y se virtieron en tubos de polipropileno que contienen en sus paredes anticuerpos para cortisol marcados con un material radioactivo (Iodo 125). Se incubaron los tubos con el suero durante 45 minutos, se agitaron vigorosamente y se decantaron. Posteriormente fueron introducidos a la máquina de RIA previamente calibrada con el procedimiento que se describe en el Kit comercial (Coat-a-Count de laboratorios DPC).

4.5. Análisis estadísticos. Dado que los datos obtenidos de las observaciones no tienen una distribución semejante a la curva normal, se utilizaron pruebas estadísticas no paramétricas. En el primer estudio, se usó la prueba de Kruskal Wallis para comparar las conductas y respuestas fisiológicas entre los 4 grupos de vacas. Aquella comparación que mostró una diferencia entre grupos estadísticamente significativa, se le aplicó una prueba de U de Mann Whitney, para saber que grupos explican esta diferencia. También se utilizaron correlaciones de Spearman para correlacionar la conducta y grupos de dominancia con los niveles de cortisol. En el segundo estudio, se utilizaron la prueba de U de Mann Whitney para comparar dos grupos independientes (vacas de primer parto y multíparas) y la prueba de Correlaciones de Spearman para correlacionar los datos de conducta con los niveles de cortisol en sangre. En todos los casos se consideraron como estadísticamente significativos los resultados que mostraron un valor de p, con un intervalo de confianza del 95% y 99% ($p < 0.05$ y $p < 0.01$).

5. RESULTADOS Estudio 1.

COMPORTAMIENTO SOCIAL Y NIVELES DE CORTISOL SERICO EN VACAS CON DIFERENTE NUMERO DE ECHADEROS DISPONIBLES.

5.1. Interacciones agresivas. Los resultados de agresión total están presentados en la Figura 1. Las frecuencias de agresión variaron de 0.51/hr en el grupo 1P en pastoreo hasta 2.02/h en el grupo 3C (1:1), lo cual resultó en una diferencia significativa (Kruskal Wallis: $H= 16.78$, $n=40$, $p< 0.05$). La comparación post-hoc de los grupos 2 por 2, mostró una frecuencia más baja en el grupo 1P que en los 3 grupos estabulados (Mann Whitney, $p<0.01$), mientras que no se observaron diferencias significativas entre los grupos estabulados ($p> 0.05$).

La frecuencia de topeteos promedio por hora se muestran en la Figura 2. Se encontraron frecuencias en topeteos desde 1.44 topeteos/h en el grupo 3C (1:1), hasta 0.33/h en el grupo 1P (pastoreo) que presentó las frecuencias más bajas, estas diferencias fueron significativas (Kruskal Wallis, $H= 11.82$, $p<0.01$). La comparación post-hoc de los grupos 2 por 2, mostró la frecuencia más baja en el grupo 1P que en los 3 grupos estabulados (Mann Whitney, $p<0.01$). No se observaron diferencias significativas en los grupos estabulados.

También se midió en este estudio la frecuencia de amenazas promedio (Figura 1). Las frecuencias de agresión variaron desde 0.81 amenazas/h en el grupo 3C (1:1) hasta 0.19/h, lo cual resultó en una diferencia significativa (Kruskal Wallis: $H= 17.76$,

$p < 0.01$). Al comparar los grupos pot-hoc 2 por 2 se observó una frecuencia más baja en el grupo 1P (pastoreo) que en los grupos 2C (2:1), 3C (1:1) y 4C (1:2), la diferencia fue significativa (Mann Whitney, $p < 0.01$). No hubo diferencias significativas entre los grupos estabulados.

5.2. Interacciones afiliativas. De las conductas afiliativas observadas, la más frecuente fue el lamido social que correspondió al 70% de todas las interacciones de este tipo. El 90% del lamido social se dirigió hacia la cabeza y cuello y se realizó después de comer. En este estudio se midieron las frecuencias de lamido social, de otros tipos de afiliación que no son lamidos (ver etograma) y la frecuencia de afiliación total (lamido social + otros tipos de afiliación). Se evaluó el total de las conductas de afiliación como se muestra en la Figura 2. Las frecuencias de afiliación por hora por grupo, variaron desde 0.6/h en el grupo 3C, hasta 0.27/h en el grupo de pastoreo 1P, lo que resultó en una diferencia significativa, (Kruskal Wallis, $H = 7.83$, $n = 40$, $p < 0.05$). La comparación post-hoc de los grupos 2 por 2, mostró diferencias entre los grupos 1P (pastoreo) y 3C (1:1) (Mann Whitney, $U = 2.9$, $p < 0.01$), las demás comparaciones no mostraron diferencias significativas. Se encontró también que la frecuencia de lamido social más alta, varió desde 0.5 lamidos/h en el grupo 3C (1:1) hasta 0.12 y 0.1 lamidos/h en los grupos 1P (pastoreo) y 4C (1:2) respectivamente. La diferencia fue significativa (Kruskal Wallis, $H = 16.05$, $p < 0.01$). La comparación post-hoc de los grupos 2 por 2, mostró diferencias en las frecuencias, más bajas en el grupo 1P (pastoreo) y 4C (1:2), ($U = 2.4$, $p < 0.05$), con el grupo 3C (1:1) (Mann Whitney, $U = 3.5$, $p < 0.01$).

5.3. Conductas de mantenimiento. Para obtener datos acerca de las conductas de mantenimiento, se calculó el tiempo que permanecían en locomoción, comiendo y echadas, durante la mañana (de las 6:00 a las 12:00 h) y en la tarde (de las 12:30 a las

18:30 h). Se midió también la sincronización conductual de cada grupo, analizando el porcentaje de vacas que se encontraban haciendo lo mismo al mismo tiempo. Al comparar estos valores en los 4 grupos, no se encontraron diferencias significativas en la sincronización de la conducta (Kruskal Wallis) (Figuras 3, 4 y 5).

5.4. Prueba de desafío a la ACTH. Al final del período de observaciones se realizó la prueba de desafío a la ACTH. Se compararon los niveles de cortisol 1 hora antes y después de la inyección de una dosis fisiológica de ACTH (0.33 UI/kg de peso) para medir la sensibilidad de la corteza adrenal a producir cortisol, como se describe en el capítulo de material y métodos. Los niveles de cortisol promedio para cada grupo 1 hora antes de la administración de la ACTH fueron de 29.42, 15.91 y 21.85 ng/ml para los grupos 2C (2:1), 3C (1:1) y 4C (1:2) respectivamente. Los niveles de cortisol promedio en el suero, al momento de la administración de la ACTH, fueron de 24.13, 22.78 y 33.46 ng/ml para los grupos 2C (2:1), 3C (1:1) y 4C (1:2) respectivamente. Los niveles de cortisol sérico a los 60 minutos después de la administración de la ACTH fueron de 199.52, 199.32 y 174.4 ng/ml en los grupos 2C (2:1), 3C (1:1) y 4C (1:2). A los 90 minutos de la administración de la ACTH los niveles de cortisol promedio encontrado en los grupos 2C (2:1), 3C (1:1) y 4C (1:2) fueron de 205.37, 266.98 y 167.68 ng/ml respectivamente. No se encontraron diferencias significativas en los niveles de cortisol promedio entre los 3 grupos, en los diferentes puntos de muestreo (Kruskal Wallis). (Figura 6).

5.5. Relación entre conducta social y niveles de cortisol. Se correlacionó la conducta social estudiada en los cuatro grupos entre sí. Al correlacionar la frecuencia de conductas agresivas (topeteos y amenazas) con las conductas afiliativas, la afiliación emitida se encontró correlacionada positivamente con el número de topeteos que se

emiten ($R_s = .30, n=40, p < 0.05$) y correlacionada negativamente con las amenazas que se reciben ($R_s = -.48, n=40, p < 0.05$). Por otro lado la afiliación recibida se encontró correlacionada positivamente con la frecuencia de afiliación emitida ($R_s = .39, n=40, p < 0.05$) (Apéndice V). Se correlacionaron todas las conductas sociales (agresivas y afiliativas) descritas en el etograma con los niveles de cortisol en suero tomados en las muestras a -1hr, 0, 60 min y 90 min después de la administración de la ACTH y no se encontró ninguna relación significativa (Kruskal Wallis).

6. RESULTADOS Estudio 2.

COMPORTAMIENTO SOCIAL Y NIVELES DE CORTISOL EN VACAS DE PRIMER PARTO Y MULTIPARAS

6.1. Conducta individual o de mantenimiento. Al comparar la conducta individual en los dos grupos de vacas, se encontraron las siguientes diferencias (Mann Whitney): las vacas de primer parto pasan más tiempo caminando durante las 24 horas, 3.1% del tiempo total, mientras que las vacas multíparas caminan 2.0% del tiempo, esta diferencia es significativa ($U=48$, $n=30$, $p<0.01$), las vacas de primer parto invierten el 0.93% del tiempo caminando durante la noche y las multíparas solamente el 0.68% ($U=65.5$, $p<0.05$). También se encontraron diferencias en el tiempo que permanecen echadas en los pasillos, mientras que las vacas de primer parto se echan el 18% del tiempo, las vacas multíparas se echan el 16% del tiempo en los pasillos ($U=31$, $n=30$, $p<0.01$). Por otro lado, las vacas multíparas permanecen más tiempo paradas en el pasillo del bebedero, comedero y echaderos (11%) y las vacas de primer parto se paran en estos lugares solamente el 7.7% del tiempo ($U=66$, $p<0.05$). (Figura 7).

6.2. Conducta social. Al comparar los patrones de conducta social en los dos grupos de vacas (primer parto y multíparas). Se encontró que los índices de dominancia o índices de competencia social (índice de éxito e índice de desplazamiento), basados en conductas agresivas (la frecuencia y número de individuos que son capaces de desplazar). Se compararon los valores promedio de los índices entre grupos, observándose que las vacas multíparas presentan mayor índice de desplazamiento promedio (0.58) que las vacas de primer parto que presentaron un promedio de 0.43.

($U = 54$, $n = 30$, $p < 0.01$). Las vacas multíparas presentaron también mayor índice de éxito promedio (0.59) que las vacas de primer parto que mostraron valores promedio de 0.43 ($U = 62$, $n = 30$, $p < 0.05$). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar la frecuencia de interacciones afiliativas entre grupos ($p < 0.05$) (Figura 8).

6.3. Relación entre conductas individuales y sociales de los dos grupos de vacas. Se relacionaron los índices de competencia social con las conductas de mantenimiento (caminando las 24 horas, comiendo de noche, echadas en los pasillos, echadas de día y de noche, paradas en los pasillos del bebedero, comederos y echaderos, bebiendo). Se encontró una correlación negativa entre el índice de éxito y el tiempo caminando durante las 24 horas ($R_s = -.499$, $p < 0.01$), el tiempo comiendo en la noche ($R_s = -.480$, $p < 0.05$) y el tiempo que permanecen echadas en los pasillos ($R_s = -.482$, $p < 0.05$). Por otro lado el índice de éxito se encontró correlacionado positivamente con el tiempo que permanecen paradas en los pasillos del bebedero, comederos y echaderos ($R_s = .382$, $p < 0.05$), con el tiempo echadas en el día ($R_s = .350$, $p < 0.05$) y en la noche ($R_s = .583$, $p < 0.01$). Por otro lado, el índice de desplazamiento se correlacionó negativamente con el tiempo que permanecen echadas en los pasillos ($R_s = .350$, $p < 0.05$) y positivamente con el tiempo que están paradas en los pasillos del bebedero, comederos y echaderos ($R_s = .359$, $p < 0.05$) y con el tiempo bebiendo ($R_s = .355$, $p < 0.05$). También, se encontró una correlación positiva entre el índice de afiliación y el tiempo que caminan durante las 24 horas ($R_s = .496$, $n = 30$, $p < 0.05$). No se encontraron otras correlaciones estadísticamente significativas al analizar las conductas antes mencionadas. (Apéndice VI).

6.5. Prueba de desafío a la ACTH. Se realizó la prueba de desafío de la corteza adrenal con aplicación de ACTH y al evaluar los niveles de cortisol en suero se encontró que los valores promedio de cortisol en las vacas primíparas fueron de 21.46, 29.09, 220.40, 202.93, 145.41, 74.44 y 28.31 ng/ml en los sangrados realizados 1 hora, 0, 30 min, 60 min y 30 min, 60 min, 90 min, 120 min y 210 min después de la ACTH respectivamente. En las vacas múltiparas los niveles de cortisol promedio fueron de 8.10, 14.98, 226.18, 133.35, 86.01, 74.23 y 23.04 ng/ml a -1 h, ACTH, 30, 60, 90, 120 y 210 minutos después de la aplicación de ACTH respectivamente. Las vacas de primer parto presentaron niveles de cortisol más elevados en el primer sangrado tomado 1 hora antes de la administración de la ACTH, y en las muestras de sangre tomadas a los 60 y 90 minutos después de la ACTH, la diferencia fue significativa ($U=62$, $p < 0.05$). No se encontraron diferencias significativas en las muestras tomadas 1 hora antes, 0, 30 min, 120 min y 210 min después de la administración de la ACTH. (Figura 9).

6.6. Relación entre variables de conducta y niveles de cortisol. Se correlacionaron las respuestas de comportamiento social y de mantenimiento con los niveles de cortisol tomados a los 60 y 90 minutos después de la inyección de la ACTH. Los niveles de cortisol medidos a los 60 y 90 minutos después de la administración de la ACTH, están correlacionados positivamente con el tiempo caminando ($R_s = .468$, $p < 0.05$ a los 60 min y $R_s = .567$, $p < 0.01$ a los 90 min) y el tiempo que permanecen echadas en los pasillos ($R_s = .391$, $p < 0.05$ a los 60 min y $R_s = .385$, $p < 0.05$ a los 90 min). Asimismo se encontró una correlación positiva entre los niveles de cortisol tomados a los 90 min de la ACTH con el tiempo que comen durante la noche ($R_s = -.378$, $p < 0.05$) (Apéndice VI). Por otro lado, los índices de éxito y desplazamiento no se encontraron correlacionados significativamente con los niveles de cortisol en sangre en ninguno de los sangrados obtenidos.

7. DISCUSION

Introducción. Los objetivos de esta tesis fueron evaluar el comportamiento social e individual de las vacas en los sistemas intensivos de producción lechera y su relación con la actividad de la corteza adrenal.

7.1. Discusión Estudio 1.

La agresión en un hato tiene la finalidad de defender un espacio individual y tener mayor acceso a los recursos como son comederos, bebederos, echaderos y los lugares preferidos del corral. El haber encontrado que los grupos en confinamiento, 2C (2:1), 3C (1:1) y 4C (1:2) presentaron más agresión (topeteos y amenazas) en comparación con el grupo en pastoreo IP, es similar a lo informado por Kilgour, 1984; Friend, 1991; Wierenga, 1991; Broom y Johnson, 1993; Galindo y Broom, 1993. Por su parte, Wierenga (1991), observó que en condiciones de hacinamiento, el nivel de agresión aumentó dentro del hato y algunas vacas que normalmente eran de baja jerarquía social atacaban a las de alta jerarquía, lo que llamó conductas aberrantes. El hecho de que no existieran diferencias en la frecuencia de agresión entre grupos en confinamiento se puede deber a distintas razones, entre ellas, es posible que el diseño experimental utilizado no haya podido controlar las causas de agresión, sin ver las condiciones a las que fueron impuestas las vacas en cada grupo como: calidad de la superficie de los echaderos, distancia de los pasillos a los echaderos y comederos, así como la conformación de cada grupo. Los estudios a futuro que intenten evaluar la disponibilidad a echaderos y agresión, deberán considerar este factor en su diseño, de otra manera es

posible que se enmascare el efecto provocado por la disminución del número de echaderos, como en este caso.

Interacciones afiliativas. Hart, 1985; Fraser y Broom, 1990; Sato, 1991, mencionan que el lamido social tiene como funciones el reconocimiento de los individuos del hato, el establecimiento de jerarquías sociales y limpieza. El haber encontrado en este estudio que el 80% del lamido social estaba dirigido hacia zonas donde las vacas no se pueden lamer a sí mismas, nos hace pensar en la función de limpieza de esta conducta, además el 70% de las conductas afiliativas fueron lamido social.

Wierenga (1991) y Krohn (1994), mencionan que el tipo de sistema de producción (intensivo, semiextensivo o extensivo), también pueden afectar la frecuencia de lamido social, ya que las vacas se lamen más y por más tiempo cuando se encuentran en los patios de descanso o en pastoreo y en los espacios abiertos lejos de los echaderos. Al contrario de lo observado por los autores antes mencionados, la frecuencia más baja de afiliación por hora se presentó en el grupo de pastoreo 1P. Este resultado puede deberse a que las condiciones de los patios de descanso y las praderas de los estudios antes mencionados, son diferentes a las del presente estudio. Otra diferencia con esta investigación, fue que las conductas afiliativas no lamidos, como son oler nariz con nariz, oler otras partes del cuerpo, recargar cabeza con cabeza o en otras partes del cuerpo, rascarse unas con otras, se presentaron en un 90% en los echaderos o cerca de ellos. Sambraus (1969), Krohn (1994) y Takeda *et al.* (1997), encontraron que el lamido social se presentó más frecuentemente después de comer y cerca de los comederos, al igual que lo observado en este estudio. Por lo tanto, no hay que dejar de lado la posibilidad de que, el lamido social esté relacionado con funciones digestivas o nutricionales. De Pasillé y Rushen (1997), encontraron que los becerros después de

comer, habiendo saciado su hambre, tienden a dirigir conductas orales hacia las instalaciones y a otros becerros lo cual aumenta los niveles de insulina y colesistoquinina que ayudan al proceso digestivo. Asimismo, Blowey (1996), encontró que las vacas se lamen más a sí mismas cuando falta sodio en la dieta. En esta investigación, las diferencias encontradas en frecuencia de agresión entre los grupos 1P (pastoreo) y 4C (1:2) con el grupo 3C (1:1), puede tener su explicación en lo comentado anteriormente con respecto al diseño experimental utilizado. La hipótesis de que el lamido social tiene una función reguladora del estrés, no puede ser descartada, ya que al no haber encontrado diferencias en la agresión entre grupos, es difícil interpretar la relación entre afiliación y agresión, de acuerdo a los grupos experimentales conformados. Se deben realizar más investigaciones a este respecto.

Por otro lado, se encontró una correlación positiva entre la agresión emitida y la afiliación emitida, esto quiere decir que las vacas más agresivas y dominantes son las que emiten más afiliación. Wood Gush (1983), encontró una tendencia a aumentar la frecuencia de lamido social en presencia de estrés, sin embargo, estos datos no fueron estadísticamente significativos. Por otro lado, Sato *et al.*, (1993) observaron en vacas japonesas, que los individuos subordinados tendían a lamer a las dominantes como una forma de disminuir la agresión de éstas, lo cual en el presente estudio no fue observado, aunque la afiliación de las dominantes no fue dirigida hacia vacas de una jerarquía social en particular. Sin embargo, algunos autores mencionan que una de las funciones más importantes del lamido social es aumentar la estabilidad social del hato y ésta puede ser una forma de establecerse socialmente (Sambraus, 1969; Albright, 1981; Hart, 1985; Fraser y Broom, 1990; Sato, 1991; y Takeda *et al.*, 1997).

Niveles de cortisol. Se realizaron los muestreos de sangre con respecto a Lay *et al.* (1996), donde se observó que con una dosis de 0.3UI/Kg a los niveles más altos de cortisol en respuesta a la inyección de la ACTH se presentan a los 60 y 90 minutos. No obstante, hubiera sido deseable obtener por lo menos 2 sangrados más, para tener la curva completa de eliminación de la ACTH. El manejo durante el sangrado, como se mencionó anteriormente, se realizó tomando directamente la sangre de la vena coccígea, basados en los estudios de Hopster (1998), donde encontró que las vacas sangradas con cánula presentaban niveles de cortisol más elevados, que las vacas sangradas con aguja hipodérmica. En este estudio, se realizaron pruebas de desafío a la ACTH solamente en los grupos estabulados debido a que el grupo de pastoreo está menos acostumbrado al manejo y esto nos podría retrasar el tiempo de muestro en las vacas. Esta decisión se tomó basada en los estudios de Friend (1991), Lay *et al.* (1996) y Hopster (1998).

En este estudio no se encontraron diferencias significativas en los niveles de cortisol entre grupos, ni antes ni después de la administración de la ACTH. Es posible que el estrés que se iba a causar por la reducción del número de echaderos, no haya sido suficiente para inducir una diferencia entre grupos. Probablemente, la formación de los grupos en sí y las condiciones antes expuestas, pudieron ser más estresantes para las vacas (Friend *et al.*, 1977 y 1985; Mench *et al.*, 1990; Sato, 1990 y Hasegawa *et al.* (1997). El reagrupamiento, parece ser una causa importante de estrés. Hasegawa (1997), encontró que las vacas dominantes presentaban niveles de cortisol elevados como respuesta a la ACTH a los 14 días después del reagrupamiento, a este respecto, Mench *et al.*, (1990), encontraron niveles elevados de cortisol incluso a los 84 días de realizado este manejo.

7.2. Discusión Estudio 2.

No obstante que se han observado muchas características físicas (tamaño, presencia o no de cuernos, agilidad) y de temperamento que pueden afectar el estatus social de cada vaca, hay que tomar en cuenta que con la edad se adquieren características físicas como el tamaño principalmente y características psicológicas como la experiencia, que pueden hacer que una vaca tenga mayor jerarquía social (Anderson, 1984; Fraser y Broom, 1990; Wierenga, 1991; Galindo y Broom, 1993; Webster, 1993; Lay *et al.*, 1993; Singh-SS *et al.*, 1993; Lidfors, 1994; Hemsworth, *et al.*, 1995; Hopster, 1998). Esta diferencia en las jerarquías se notó claramente en este estudio, donde las vacas de primer parto desde el inicio mostraron tener menor jerarquía social y sufrir las agresiones de las vacas multíparas. Las vacas primíparas tenían menos acceso a los recursos, descansaban menos tiempo, caminaban más, permanecían más tiempo en las zonas sucias del corral y no tenían acceso a los echaderos. Basados en los estudios de Bouissou (1970) y Galindo y Broom (1993, 2000), donde se menciona que aun existiendo un echadero y un comedero por vaca, existe competencia por los lugares preferidos del corral, como son los echaderos y las zonas más limpias del mismo. En este estudio, la competencia pudo ser más notoria, porque el corral constaba de 30 echaderos para 60 vacas, dentro de las que estaban las 30 vacas del experimento.

El 70% de las interacciones afiliativas corresponden a lamido social y al igual que en el estudio 1, se dirigieron hacia la cabeza y el cuello. Se observó que las vacas de primer parto emitían más lamidos que las vacas multíparas. Hart (1985), vio que las vacas adultas recibían y emitían más lamidos hacia otras vacas. Reinhardt y Reinhardt (1975), Hart (1985) y Sato (1993) observaron que las vacas de menor jerarquía lamían más a vacas de mayor jerarquía. El hecho de que en este estudio, las vacas de baja

jerarquía emtieran más lamidos y que esta conducta sea más frecuente en el grupo que recibe más agresión, puede reforzar el argumento, de que traten, a través del lamido, de modular el estrés social (Sambraus, 1969; Albright, 1981; Hart, 1985; Fraser y Broom, 1990; Sato, 1991; y Takeda *et al.* , 1997).

También se observó, que las vacas de primer parto permanecían más tiempo en las zonas más sucias del corral (pasillos). Tomando en cuenta lo observado por Sato (1991), donde menciona que el lamido social se presenta más frecuentemente en los lugares sucios, probablemente en este caso en particular a esto se deba que las vacas de primer parto emiten y reciben más lamidos. Es importante hacer notar que en este estudio, el lamido social se presentó en el grupo donde hay más agresión y estrés. En este caso, el lamido social puede estar haciendo la función reguladora del estrés social

Conductas de mantenimiento y sincronización del comportamiento. Las vacas son animales gregarios que tienden a sincronizar su comportamiento. En condiciones ideales, del 90%-100% de los miembros del hato se encuentran haciendo lo mismo al mismo tiempo. Cuando aumenta la agresión en el grupo, esta sincronía se rompe y el resultado es que algunos animales, usualmente los de baja jerarquía social comen y descansan menos tiempo (Miller y Wood-Gush, 1991; Wierenga, 1991, Galindo y Broom, 1993, Galindo *et al.*, 2000). En el estudio 2, se observaron directamente las conductas de mantenimiento de cada una de las vacas durante las 24 horas, encontrándose una clara desincronización del hato, donde las vacas de primer parto comen y caminan durante la noche, mientras que las vacas multíparas permanecían dormidas. En este rancho en particular, las vacas primíparas podían comer en la noche por que tenían acceso al alimento las 24 horas del día. Las vacas multíparas permanecían más tiempo en los pasillos de los echaderos y de los comederos (zonas preferidas)

porque eran los más limpios y para evitar que las vacas de primer parto se acercaran a comer o se echaran en los echaderos, así es que las vacas primíparas tuvieron que cambiar sus horarios de alimentación, descansaban menos tiempo durante las 24 horas y se echaban en los pasillos del corral.

Cortisol y estrés. En la prueba de desafío a la ACTH se utiliza una dosis fisiológica de esta hormona (Dantzer y Mormède, 1983). Lay *et al.*, (1996), en vacas Brahman, utilizaron dosis desde 0.125 UI/kg hasta 1UI/kg de peso, notaron que el pico de producción de cortisol siempre es el mismo, lo que cambia es el tiempo de eliminación que varía de 180 a 300 minutos después de la inyección de la ACTH. En el estudio 2, se usó una dosis aún más baja (0.11UI/kg), encontrándose que se presentó el mismo pico de cortisol en respuesta a la ACTH que con dosis más altas. Hopster (1998), recomienda utilizar dosis fisiológicas bajas de ACTH debido a que el eje Hipotálamo-hipófisis-corteza adrenal es extremadamente sensible a los cambios del medio. A pesar de que la dosis de ACTH aplicada fué en este estudio menor a la del estudio 1 (0.3UI / kg), los niveles de cortisol promedio fueron más elevados (24.5ng / ml en el estudio 2 y 19.91ng / ml en el estudio 1). Esto nos hace pensar que la dosis de 0.11 UI/Kg de ACTH es suficiente para estimular a la corteza adrenal y darnos una respuesta satisfactoria en cuanto a la liberación de cortisol por parte de la corteza adrenal. Los niveles de cortisol también se han relacionado con las jerarquías sociales (Mendl y Deag, 1995; Hasegawa, 1997), con la falta de espacio (Friend *et al.*, 1979 y 1977), con los estados de salud y las estrategias individuales de comportamiento (Galindo, 1993; Hopster, 1998). En este estudio, se encontraron relacionados los niveles de cortisol en sangre con la jerarquía social baja, el tiempo caminando, echadas en los pasillos y comiendo en la noche. Esto confirma que las vacas primerizas recién introducidas al hato, tienen una mayor sensibilidad de la corteza adrenal por estrés crónico.

7.3. Conclusiones y sugerencias para trabajos futuros.

Debido a la serie de decisiones que las vacas tienen que tomar constantemente y al temperamento particular de cada animal, cada grupo de vacas es único e irrepetible y tiene sus propias formas de comunicación social.

Como se mencionó anteriormente, la agresión aumenta en los sistemas intensivos de producción lechera, es muy importante hacer notar la importancia que tiene esto para el bienestar de las vacas, ya que el estrés hace más susceptibles a los animales a presentar enfermedades como laminitis, mastitis y problemas reproductivos. También se observó que el aumento de agresión afecta especialmente a las vacas de baja jerarquía social, como se observó en el estudio 2. Las vacas jóvenes al ser introducidas a un nuevo grupo de adultas tienen que establecerse socialmente y competir por los recursos con vacas más grandes y experimentadas causándoles estrés. Se deben realizar más estudios para disminuir el estrés social en las vacas primerizas al ser introducidas al hato de producción lechera e implementar sistemas de manejo para protegerlas y que a la vez tengan contacto con las vacas adultas multíparas para aprender de ellas.

Se deben realizar estudios para evaluar el costo que representa para cada vaca el aumento de agresión en el hato, el hacinamiento, la escasez de recursos, tipo y limpieza de pisos y la jerarquía social baja, para poder mejorar el bienestar de las vacas y hacer más eficiente su vida productiva. Asimismo, deben hacerse investigaciones para evaluar la relación del estrés social con la distribución de enfermedades en un hato.

Además de otras funciones (limpieza, establecimiento de jerarquías, reconocimiento de otros individuos, disminución del aburrimiento) el lamido social tiene la función de disminuir la agresión dentro del hato (Reinhardt y Reinhardt, 1975; Albright, 1981; Wood, 1983; Sato, 1990; Fraser y Broom, 1990). También se ha mencionado que tiene una función de establecimiento de jerarquías sociales, sin embargo en esta tesis no se encontraron datos suficientes como para asegurar que las jerarquías sociales están relacionadas con el lamido social. Es importante estudiar más a fondo las conductas afiliativas de las vacas en los hatos lecheros y evaluar si estas conductas solamente tienen una función social y no otras funciones relacionadas con procesos digestivos.

8. LITERATURA CITADA.

Alam, M.G.S. y Dobson, H. 1986. Effects of various veterinary procedures on plasma concentrations of cortisol, luteinising hormone and prostaglandin F2 alfa metabolite in the cow. The Veterinary Record, January 118: 7-10.

Albright, J.L., 1981. Dairy cattle housing and management. Dairy Science Handbook 14: 95-100.

Anderson, 1989. Water supply in dairy cows. PhD thesis. Agricultural University Wageningen.

Arnold, G.W. Y Dudzinski, 1978. Ethology of free - ranging domestic animals. Amsterdam-Oxford-New York. Elsevier Scientific Publishing Company.

Barnett, J.L. y Hemsworth, P.H., 1990. The validity of physiological and behavioural measures of animal welfare. Applied Animal Behaviour Science 25: 177-187.

Benham, P.J.F., 1992. Social organization and leadership in a grazing herd of suckler cows. Applied Animal Behaviour Science 9: 95-98.

Blowey, R., 1996. Teat licking in dairy cattle. Veterinary Record 138: 15-19.

Boivin, X., Le Neindre, P., Chupin, J.M., Garel, J.P. y Trillat, G., 1992. Influence of breed and early management on ease of handling and open-field behaviour of cattle. Applied Animal Behaviour Science 32: 313-323.

Bouissou, M.F., 1970. Etablissement des relations preferentielles chez les bovins domestiques. Behaviour 64: 148-157.

Bouissou, M.F., 1990. Effects of estrogen treatment on dominance relationships in cows. Hormones and Behaviour.24: 376-387.

Broom, D.M. y Johnson, K.G., 1993. Stress and Animal Welfare. Inglaterra: Chapman and Hill.

Cermak, J., 1987. Design of cubicle beds and partitions with emphasis on rising and lying behaviour, cow body dimensions and upper leg lameness of housed dairy cows. In: Cattle, Housing Systems, Lameness and Behaviour. The Netherlands: Martinus Nijhoff, Dordrecht, pp 119-128.

Dantzer , R., Mormède, P., Bluthé, R.M. y Soissons, J., 1983. The effect of different conditions on behavioural and adrenocortical reactions in veal calves. Reproduction Nutrition Develop 23: 67-74.

De Pasille, A.M., Rushen, J., Ladewing, J. y Petherick, C., 1996. Dairy calve's discrimination of people based on previous handling. Journal of Animal Science 74: 969-974.

De Pasille, A.M. y Rushen, J., 1997. Motivational and physiological analysis of the causes and consequences of non nutritive sucking by calves. Applied Animal Behaviour Science 53: 15-31.

Drews, C., 1993. The concept and definition of dominance in animal behaviour. Behaviour 125: 3-4.

Fraser, A.F. y Broom, D.M., 1990. Animal Behaviour and Welfare. London. Baillière Tindall.

Friend, T.H., Polan, C.E., Gwazdauskas, F.C. y Heald, C.W., 1977. Adrenal glucocorticoid response to exogenous adrenocorticotropin mediated by density and social disruption in lactating cows. Journal of Dairy Science 60: 1958-1963.

Friend, T.H., Dellmeier, G.R. y Gbur, E.E. 1985. Comparison of four methods of calf confinement, I. Physiology. Journal Animal Science 60: 1095-1101.

Friend, T.H. y Dellmeier, G.R., 1988. Common practices and problems related to artificially rearing calves: an ethological analysis. Applied Animal Behaviour Science 20: 47-62.

Friend, T.H. 1991. Behavioural aspects of stress. Journal of Dairy Science 74: 292-303.

Galindo, F.A. y Broom, D.M., 1993. The occurrence of lameness in relation to individual behavioural responses in dairy cows. Berlin. In: Proc. Int. Cong. Etho. Ed. Nichelmann, M. Darmstadt: K.T.B.L., 96.

Galindo, F.A., Broom, D.M. y Jackson, P.G., 2000. A note on possible link between behaviour and the occurrence of lameness in dairy cows. Applied Animal Behaviour Science 67: 335-341.

Grandin, T., Odde, K.G., Schutz, D.N. y Behms, L.M., 1994. The reluctance of cattle to change a learned choice may confound preferences tests. Applied Animal Behaviour Science **39**: 21-28.

Hafez, E.S.E., Schein, M.W. y Ewbank.R., 1969. The Behaviour of Cattle. In The Behaviour of Domestic Animals. London. 2a Ed. Baillière Tindall & Cassell.

Hall, S., 1989. Chillingham cattle: social and maintenance behaviour in an ungulate that breed all year round. Animal Behaviour **38**: 215-225.

Harrison, R.O., Young, J.W. y Ford, S.P., 1989. Relationships between cortisol concentration and milk production energy balance and exhibition of estrus during early lactation in Holstein cows. Journal of Dairy Science **72**: 312-317.

Hart, B., 1985. The behaviour of domestic animals. USA. Freeman and Company, pp 55-60.

Hasegawa, N., Nishiwaki, A., Sugawara, K., Ito, I. 1997. The effects of social exchange between two groups of lactating primiparous heifers on milk production, dominance order, behaviour and adrenocortical response. Applied Animal Behaviour Science **51**: 15-27.

Heath, Adadevoh, B.K. y Steinbach, 1981. Plasma cortisol in *Bos taurus* and *Bos indicus*. Journal of Dairy Science **64**: 1586-1592.

Hemsworth, P.H., Barnett, J.L., Beveridge, L. y Matthews, L.R., 1995. The welfare of extensively managed dairy cattle a review. Animal Behaviour Science 42: 161-182.

Hemmer, H., 1990. Domestication, The Decline of Environmental Appreciation. England. Cambridge University Press.

Hsieh, M., Friend, T.H., Wagner, G.G. y Lay, Jr. D.C., 1993. The effect of confinement in metabolism stalls on the cortisol, antibody production, and antibody-dependent cell mediated cytotoxicity of tame lambs. Journal of Animal Science 71: 113-119.

Hopster, H., 1998. Coping strategies in dairy cows. PhD thesis, Wageningen, The Netherlands, University of Wageningen.

Hopster, H y Blockhuis, H.S., 1994a. Consistent individual stress responses of dairy cows during social isolation. Applied Animal Behaviour Science 40: 83-84.

Houpt, K. 1991. Domestic animal behaviour for veterinary and animal scientists. EUA. Iowa State University Press.

Hudson, S. Mullord, M. Whittlestone, W.G. y Payne, E., 1975. Diurnal variations in blood cortisol in the dairy cow. Journal of Dairy Science 58: 30-35.

Kabuga, J.D., 1993. The standing behaviour of N'dama cattle during idling in a night paddock. Applied Animal Behaviour Science 53: 17-29.

Ketelaar- de Lawrence, C.C., Devir, S., y Metz, J.H.M., 1996. The influence of social hierarchy on the time budget of cows and their visits to an automatic milking system.

Applied Animal Behaviour Science 49: 2-10.

Kilgour, R., Dalton, K., 1984. Livestock Behaviour a practical guide. Colorado USA.

West View Press Boulder.

Kondo, S., Sekine, J., Okubo, M y Asahida, Y., 1989. The effect of group size and space allowance on the agonistic and spacing behaviour of cattle. Applied Animal

Behaviour Science 24: 127-135.

Koolhas, J.M., DeBoer, S.F. y Bohus, B., 1997. Motivational systems or motivational states: Behavioural and physiological evidence. Applied Animal Behaviour Science 53:

131-143.

Krohn, C., 1994. Behaviour of dairy cows kept in extensive (loose housing/ pasture) or intensive (tie stall) environments. III. Grooming, exploration and abnormal behaviour.

Applied Animal Behaviour Science 42: 73-86.

Ladewig, J. y Smidt, D., 1989. Behaviour, episodic secretion of cortisol, and adrenocortical reactivity in bulls subjected to tethering. Hormones and Behaviour 23:

344-360.

Lay, Jr. D.C., Friend, T.H., Grissom, K.K., Bowers, C.L. y Mal. M.E., 1992a. Effects of freeze or hot-iron branding of Angus calves on some physiological and behavioural indicators of stress. Applied Animal Behaviour Science 33: 137-143.

Lay, D.C., Friend, T.H., Randel, R.D., Bowers, C.L. Grissom, K.K. y Jenkins, O.C. 1992b. Behavioural and physiological effects of freeze or hot-iron branding using dairy cows. Journal of Animal Science 70: 330-336.

Lay, Jr, D.C., Friend, T.H., Bowers, C.L. Grissom, K.K. y Jenkins, O.C., 1992c. A comparative physiological and behavioural study of freeze and hot-iron branding using dairy cows. Journal of Animal Science 70: 1121-1129.

Lay, D.C. Friend, T.H., Randel, R.D., Jenkins, O.C., Nevendorff, D.A., Kapp, G.M y Bushong, D.M., 1996. Adrenocorticotrophic hormone dose response and some physiological effects of transportation on pregnant Brahman cattle. Journal of Animal Science 74: 1806-1811.

Lazo, A. 1994. Social segregation and the maintenance of social stability in a feral cattle population. Animal Behaviour 48: 1133-1141.

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.

Lidfors, L., Moran, D., Jung, J., Jensen, P. y Castren, H., 1994. Behaviour at calving and choice of calving place in cattle kept in different environments. Applied Animal Behaviour Science 42: 11-28.

Luescher, U.A., Friendship, K.D., Lissemore y McKeown, D.B., 1989. Clinical ethology in food animal practice. Applied Animal Behaviour Science 22: 191-214.

Manteca, X. y Deag, J.M., 1994. Individual variation in response to stressors in farm animals: Implications for experimenters. Animal Welfare3: 213-218.

Martin, P. y Bateson, P. 1994. Measuring Behaviour. An Introductory Guide. London. Cambridge University Press.

Mason, I.L. 1984. Evolution of Domesticated Animals. London y New York. Longman.

Mendl, M., Zanella, A.J. y Broom, D.M. 1992. Physiological and reproductive correlates of behavioural strategies in female domestic pigs. Animal Behaviour 44: 1107-1121.

Mendl, M y Deag, J.M., 1995. How useful are the concepts of alternative strategy and coping strategy in applied studies of social behaviour?. Applied Animal Behaviour Science44: 119-137.

Mench, J.A., Swanson, J.C. y Stricklin, W.R., 1990. Social stress and dominance among group members after mixing beef cows. Canadian Journal of Animal Science. 70: 345-354.

Metz, J.H.M. y Mekking., 1984. Phenomena in dairy cows as related to available idling space in a cubicle housing system. Applied Animal Behaviour Science 12: 63-78.

Metz, J.H.M. y Mekking., 1984b. The reaction of cows to a short-term deprivation of lying. Applied Animal Behaviour Science: 301-307.

Miller, R. y Wood-Gush, D.G.M., 1991. Some effects of housing on the social behaviour of dairy cows. Animal Production 53: 271-278.

Morisse, J.P., Cotle, J.P. y Huornnic, D., 1995. Effect of dehorning on behaviour and plasma cortisol responses in young calves. Applied Animal Behaviour Science 42: 239-247.

Mormède, P., 1983. Neuroendocrine Responses to Social Stress. In Zagan R. and Dantzer. Social Stress in Domestic Animals. Dordrecht , The Netherlands. Kluwer Academic Publishers.

Munksgaard, L. y Simonsen, H.B., 1996. Behavioural and pituitary adrenal-axis responses of dairy cows to social isolation and deprivation of lying down. Journal of Animal Science 74: 847-853.

Nicol,C.J., 1995. The social transmission of information and behaviour. Applied Animal Behaviour Science 44: 79-78.

O'Connel, J.M.O., Meaney, W.J., y Giller, P.S., 1991. An evaluation of four cubicle designs using cattle behaviour criteria. Irish Veterinary Journal 44: 8-13.

O'Connel, J.M., Giller, P.S. y Meaney, W.J. 1993. Weanling training and cubicle usage as heifers. Applied Animal Behaviour Science 37: 185-195.

Phillips, C.J.C., 1993. Cattle Behaviour. United Kingdom. Farming Press.

Phillips, L.J. y Schofield, S.A., 1994. The effect of cubicle and straw yard housing on the behaviour, production and hoof health of dairy cows. Animal Welfare 3: 37- 44.

Potter, M.J. y Broom, D.M., 1987. The behaviour and welfare of cows in relation to cubicle design. In: Cattle Housing Systems, Lameness and Behaviour. Current Topics in Veterinary Medical Science. 129-147.

Potter, M.J. y Broom, D.M., 1990. Behaviour and welfare aspects of cattle lameness in relation to building design. In Proceedings of the Vth International Symposium of Diseases of the Ruminant Digit, British Cattle Veterinary Association, Liverpool: 80-84

Radchenkov, V.P., Butrov-E.V., Emerenco, V.I., Aliev, A.A., Ismailov, S.A. y Grigoev, V.V., 1988. Thyroxine, triiodothyronine, insulin and cortisol in blood of primiparous cows in relation to the type of feed. Journal of Dairy Science, abstracts. 050-06746.

Reinhardt, V. y Reinhardt, A., 1975. Dynamics of social hierarchy in a dairy herd. Z. Tierpsychol 38: 315-323.

Reinhardt, V. y Reinhardt, A., 1981. Cohesive relationships in cattle herd. Behaviour 77: 121-151.

Rushen, J. 1991. Problems associated with the interpretation of physiological data in the assessment of animal welfare. Applied Animal Behaviour Science 28: 381-386.

- Sambraus, H.H., 1969. Daz Soziale Lecken des Rindes. Z. Tierpsychol 26: 805-810
- Sapolsky, R.M. y Ray, J.C., 1989. Styles of dominance and their endocrine correlates among wild olive baboons (*Papio anubis*) . American Journal of Primatology 18: 1-13.
- Sartin, J.L., Kemppainen, R.J., Cummins, K.A. y Williams, J.L. 1988. Plasma concentrations of metabolic hormones in high and low producing dairy cows. Journal of Dairy Science 71: 650-657.
- Sato, S., Sako, S. y Maeda,., 1991. Social licking patterns in cattle (*Bos taurus*): Influence of environmental and social factors. Applied Animal Behaviour Science 32: 3-12.
- Sato, S., Taramizu, K y Hatae, K., 1993. The influence of social factors on allogrooming in cows. Applied Animal Behaviour Science 38: 235-244.
- Schloeth, R., 1961. Das Sozialleben des Camargue Rindes. Z. Tierpsychol 18: 574-627.
- Seabrook, M.F., 1994. Psychological interaction between the milker and the dairy cows. Dairy systems for the 21st century, Proc. 3rd. Int. Dairy Housing Conf, 2-5 feb. Orlando Florida. 49-58.
- Selye, H., 1973. The evaluation of the stress concept. Animal Science: 26: 901-946.

Singh, S.S., Ward, W.R., Launtenbach, K., Hughes, J.W. y Murray, R.D., 1993. Behaviour of first lactation and adult dairy cows while housed and at pasture and its relationship with sole lesions. Veterinary Record 133-19: 469-474.

Takeda, K., Sato, S. y Sugawara., 1997. Social and maintenance behaviours of Japanese Black cows having various numbers of associates in a comunal pasture. ISAE (International Society of Applied Ethology) 1997.

Thun, R., Eggenberger, E. y Zerobin, K., 1985. Twenty-four-hour secretory patterns of cortisol, progesterone and estradiol in heifers during the follicular and luteal phases of the ovarian cycle. Animal Reproduction Science 9: 341-356.

Vessier, I.; Chazal, P.; Le Naidre, P., 1997. Providing social contacts and objects for nibbling moderates reactivity and oral behaviours in veal calves. Journal of Animal Science 75: 356-365.

Von Borell, E., 1994. Neuroendocrine integration of stress and significance of stress for the performance of the farm animals. In Summary of the 28th International Congress of the ISAE. Denmark. Research Centre Foulum. 23-28.

Webster, J., 1993. Understanding the dairy cow. Oxford. Blackwell Scientific Publications.

Weschler, B., 1995. Coping and coping strategies: a behavioural view. Applied Animal Behaviour Science 43: 123-134.

Wiepkema, P.R. y Koolhaas, J.M., 1993. Stress and animal welfare. Animal Welfare 2: 195-218.

Wierenga, H.K., 1990. Social dominance in dairy cattle and the influences of housing and management. Applied Animal Behaviour Science 27: 201-229.

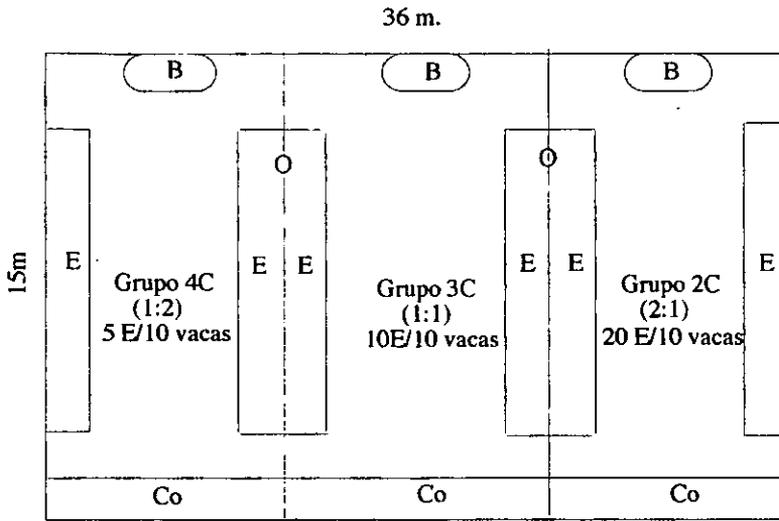
Wierenga, H.K., 1991. Behaviour of dairy cows under modern housing conditions, PhD thesis, Agricultural University, Wageningen. Holanda.

Wood, D.G.M., 1977. Social Grooming patterns in two herds of monozygotic twin dairy cows. Anim. Behav. 25: 635-642.

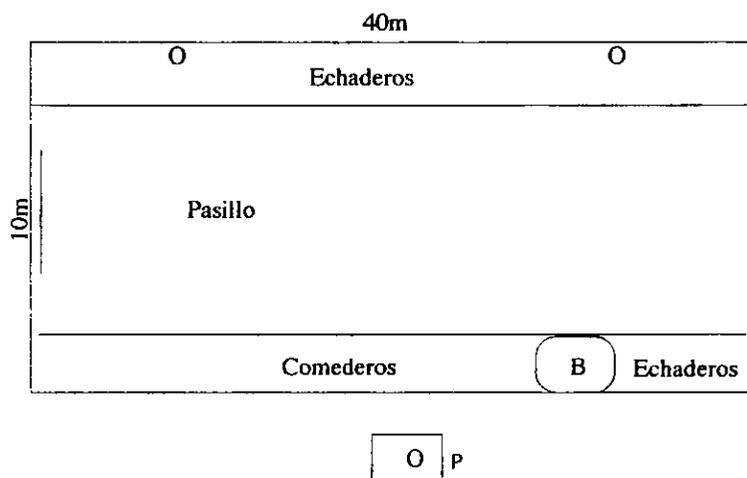
Wood, D.G.M., 1983. Elements of Ethology. Chapman and Hall. London.

Zavy, M.T., Juniewicz, P.E., Phillips, W.A . y Von Tungeln, D.L. 1992. Effect of initial restraint, weaning and transport stress on baseline and ACTH- stimulated cortisol responses in beef calves of different genotypes. American Journal Veterinary Research 53: 551-556.

Zeuner, E., 1963. A History of Domesticated Animals. Hutchinson London Inc.



Apéndice I. Grupos estabulados Estudio 1. Co= comederos, B= bebederos, E= echaderos. O= Posición del observador.



Apéndice II. Croquis estudio 2. Comederos, echaderos, B= bebedero, pasillo, O= posición del observador, P= plataforma de observación.

| Lugar | | | | Fecha | | | | Temperatura | | | | | | | |
|-------|-----|-----|-----|-------|-----|-----|-----|-------------|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|
| Vaca | loc | com | cmt | Vaca | loc | com | cmt | Vaca | loc | com | cmt | Vaca | loc | com | cmt |
| 1 | | | | 1 | | | | 1 | | | | 1 | | | |
| 2 | | | | 2 | | | | 2 | | | | 2 | | | |
| 3 | | | | 3 | | | | 3 | | | | 3 | | | |
| 4 | | | | 4 | | | | 4 | | | | 4 | | | |
| 5 | | | | 5 | | | | 5 | | | | 5 | | | |
| 6 | | | | 6 | | | | 6 | | | | 6 | | | |
| 7 | | | | 7 | | | | 7 | | | | 7 | | | |
| 8 | | | | 8 | | | | 8 | | | | 8 | | | |
| 9 | | | | 9 | | | | 9 | | | | 9 | | | |
| 10 | | | | 10 | | | | 10 | | | | 10 | | | |
| 11 | | | | 11 | | | | 11 | | | | 11 | | | |
| 12 | | | | 12 | | | | 12 | | | | 12 | | | |
| 13 | | | | 13 | | | | 13 | | | | 13 | | | |
| 14 | | | | 14 | | | | 14 | | | | 14 | | | |
| 15 | | | | 15 | | | | 15 | | | | 15 | | | |
| 16 | | | | 16 | | | | 16 | | | | 16 | | | |
| 17 | | | | 17 | | | | 17 | | | | 17 | | | |
| 18 | | | | 18 | | | | 18 | | | | 18 | | | |
| 19 | | | | 19 | | | | 19 | | | | 19 | | | |
| 20 | | | | 20 | | | | 20 | | | | 20 | | | |
| 21 | | | | 21 | | | | 21 | | | | 21 | | | |
| 22 | | | | 22 | | | | 22 | | | | 22 | | | |
| 23 | | | | 23 | | | | 23 | | | | 23 | | | |
| 24 | | | | 24 | | | | 24 | | | | 24 | | | |
| 25 | | | | 25 | | | | 25 | | | | 25 | | | |
| 26 | | | | 26 | | | | 26 | | | | 26 | | | |
| 27 | | | | 27 | | | | 27 | | | | 27 | | | |
| 28 | | | | 28 | | | | 28 | | | | 28 | | | |
| 29 | | | | 29 | | | | 29 | | | | 29 | | | |
| 30 | | | | 30 | | | | 30 | | | | 30 | | | |
| 1 | | | | 1 | | | | 1 | | | | 1 | | | |
| 2 | | | | 2 | | | | 2 | | | | 2 | | | |
| 3 | | | | 3 | | | | 3 | | | | 3 | | | |
| 4 | | | | 4 | | | | 4 | | | | 4 | | | |
| 5 | | | | 5 | | | | 5 | | | | 5 | | | |
| 6 | | | | 6 | | | | 6 | | | | 6 | | | |
| 7 | | | | 7 | | | | 7 | | | | 7 | | | |
| 8 | | | | 8 | | | | 8 | | | | 8 | | | |
| 9 | | | | 9 | | | | 9 | | | | 9 | | | |
| 10 | | | | 10 | | | | 10 | | | | 10 | | | |
| 11 | | | | 11 | | | | 11 | | | | 11 | | | |
| 12 | | | | 12 | | | | 12 | | | | 12 | | | |
| 13 | | | | 13 | | | | 13 | | | | 13 | | | |
| 14 | | | | 14 | | | | 14 | | | | 14 | | | |
| 15 | | | | 15 | | | | 15 | | | | 15 | | | |
| 16 | | | | 16 | | | | 16 | | | | 16 | | | |
| 17 | | | | 17 | | | | 17 | | | | 17 | | | |
| 18 | | | | 18 | | | | 18 | | | | 18 | | | |
| 19 | | | | 19 | | | | 19 | | | | 19 | | | |
| 20 | | | | 20 | | | | 20 | | | | 20 | | | |

Apéndice IV. Hoja de registro utilizada para conductas de mantenimiento.
 Vaca = identificación de la vaca, loc = localización de la vaca, com = comportamiento que realiza, cmt = comentarios.

| | Am-e | Am-r | Top-e | Top-r | Desp | Es desp | I que desp | I que lades | Afil-e | Afil-r |
|---------------|------|-------|-------|-------|------|---------|------------|-------------|--------|--------|
| Am-e | X | | | | | | | | | |
| Am-r | NS | X | | | | | | | | |
| Top-e | .565 | NS | X | | | | | | | |
| Top-r | NS | .428 | NS | X | | | | | | |
| Desp | .869 | NS | .703 | NS | X | | | | | |
| Es desp | NS | .8 | -.383 | .622 | NS | X | | | | |
| I que desp | .783 | NS | .71 | NS | .885 | NS | X | | | |
| I que la desp | NS | .714 | -.325 | .618 | NS | .86 | NS | X | | |
| Afil-e | NS | -.488 | .303 | NS | NS | -.323 | NS | -.315 | X | |
| Afil-r | NS | NS | .396 | NS | NS | NS | NS | NS | .398 | X |

Apéndice V. Matriz de correlación entre conductas sociales en los 4 grupos. Estudio 1. Am-e (amenazas emite), Am-r (amenazas recibe), Top-e (topeteos emite), Top-r (topeteos recibe), Desp (desplaza), Es desp (es desplazada), I que des (número de individuos que desplaza), I que la des (número de individuos que la desplazan), Afil-e (afiliación emite), Afil-r (afiliación recibe), NS=no significativo, $p > 0.05$.

| | I.E | I.D. | IAF | C 60min | C 90min |
|--------------------------|-------|------|------|---------|---------|
| Caminando | -.499 | NS | .496 | .468 | .567* |
| Comiendo en la noche. | -.48 | NS | NS | NS | .378 |
| Echadas en los pasillos. | -.482 | -.35 | NS | .391 | -.385 |
| Paradas t. | .382 | .359 | NS | NS | NS |
| Edía | .35 | NS | NS | NS | NS |
| En | .583* | NS | NS | NS | NS |
| Bebiendo | NS | .355 | NS | NS | NS |

Apéndice VI. Correlación de los índices de competencia social, índice de afiliación y cortisol con las conductas de mantenimiento en el Estudio 2 ($p < 0.05$, * = $p < 0.01$).

I.E. = Índice de éxito, ID = Índice de desplazamiento, IAF = Índice de afiliación, C60min = cortisol 60 min después de la ACTH, C90min = Cortisol 90 min después de la ACTH. Caminando, Comiendo en la noche, Echadas en los pasillos, Paradas t. = Paradas tiempo total, Edía = Echadas de día, En = Echadas en la noche, Bebiendo.

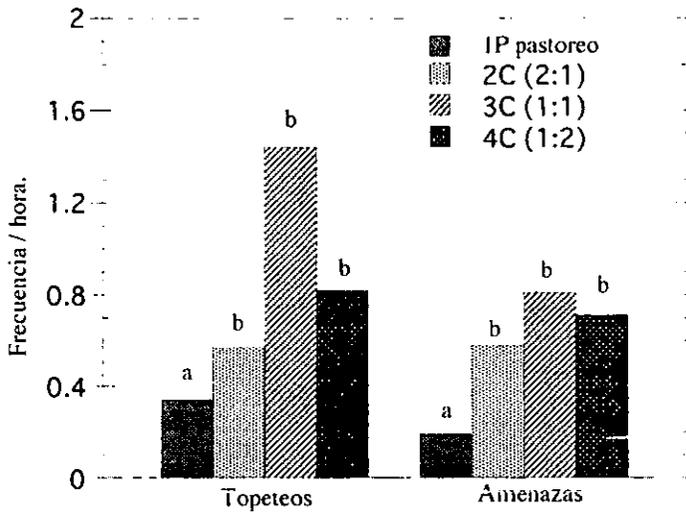


Figura 1. Frecuencia de topeteos y amenazas por hora en los 4 grupos. Estudio 1. Las letras diferentes sobre las barras representan diferencias estadísticas ($p < 0.05$).

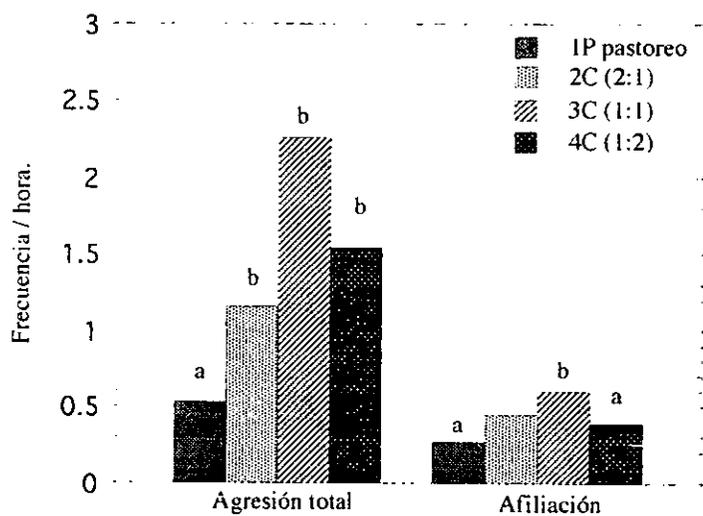


Figura 2. Frecuencia de agresión total y afiliación por hora en los 4 grupos. Estudio 1. Las letras diferentes sobre las barras representan diferencias estadísticas ($p < 0.05$).

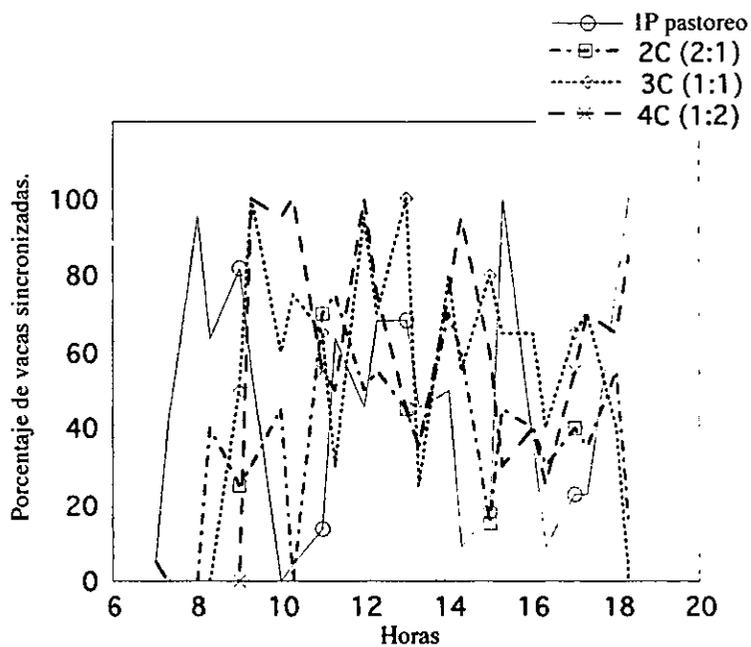


Figura 3. Porcentaje de vacas comiendo al mismo tiempo en los 4 grupos. Estudio 1.

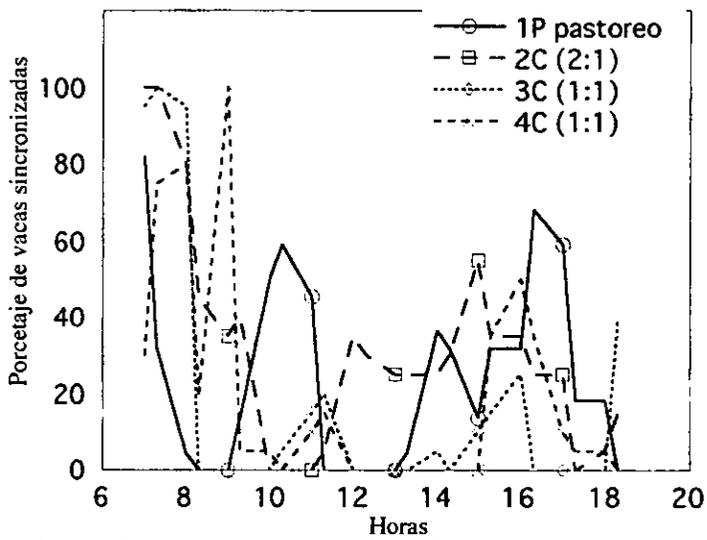


Figura 4. Porcentaje de vacas echadas al mismo tiempo en los 4 grupos. Estudio 1.

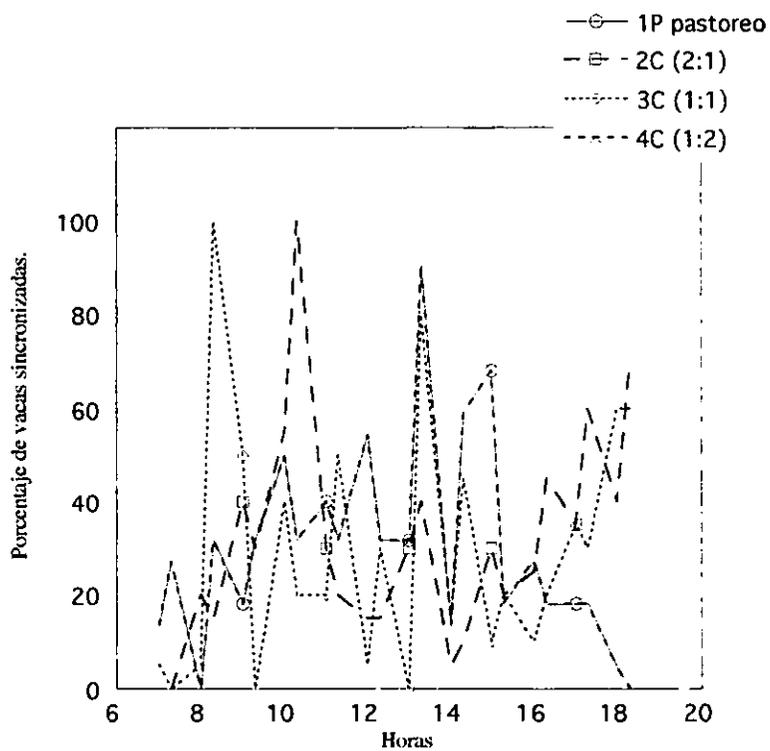


Figura 5. Porcentaje de vacas en locomoción al mismo tiempo en los 4 grupos. Estudio 1.

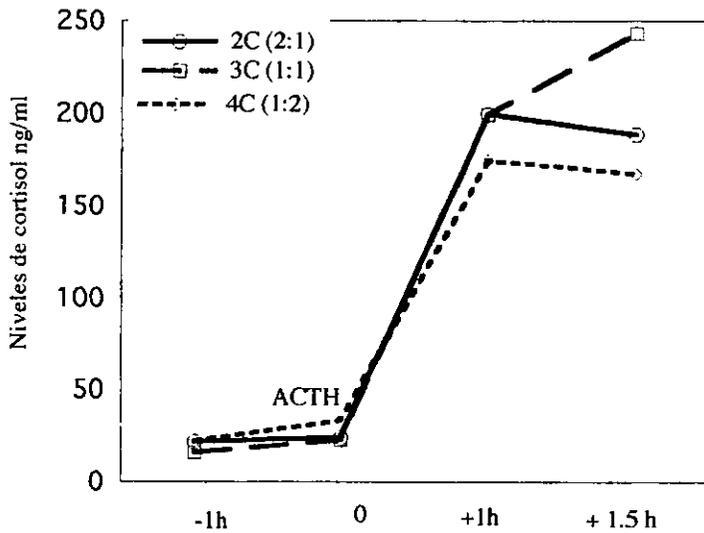


Figura 6. Niveles de cortisol en suero -1 h, 0, +1 h y +1.5 h después de la administración de la ACTH en los 3 grupos estabulados. Estudio 1.

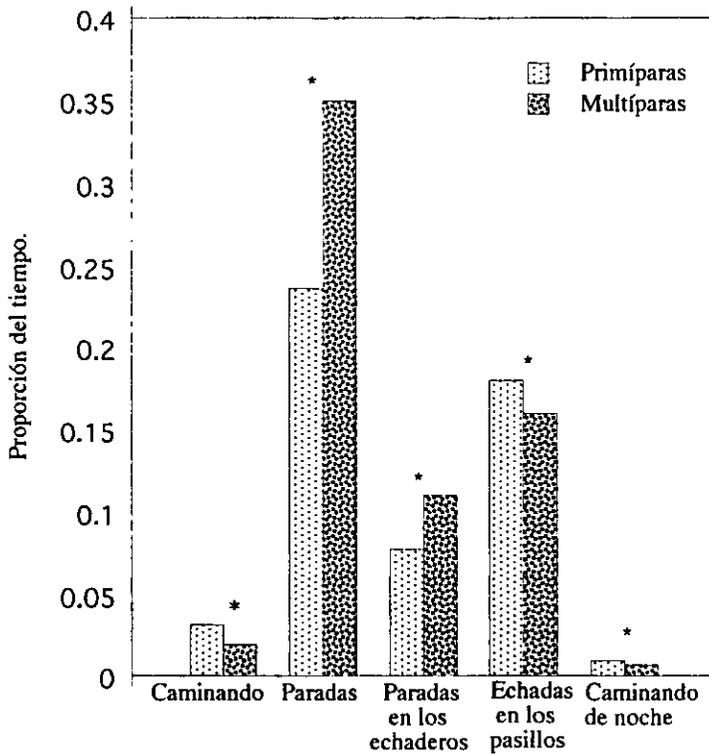


Figura 7. Proporción del tiempo realizando conductas de mantenimiento en vacas primíparas y múltiparas. Estudio 2. (* $p < 0.05$) Mann Whitney.

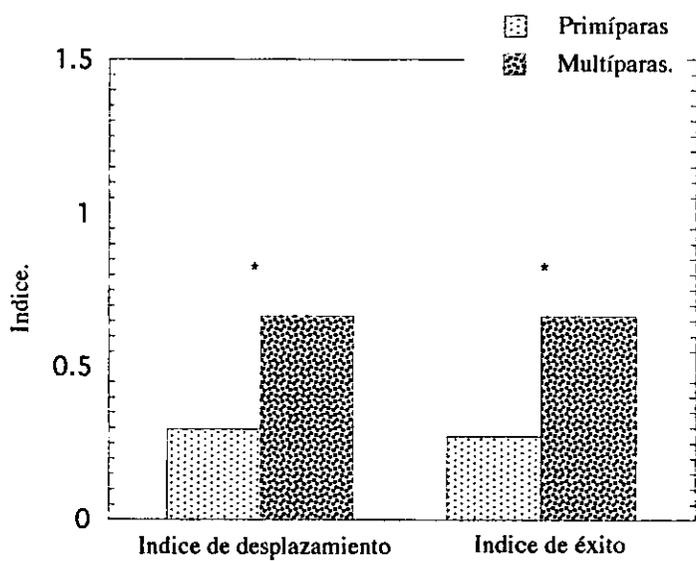


Figura 8. Indices de competencia social o dominancia en vacas de primer parto y multíparas. Estudio 2 (* $p < 0.05$).

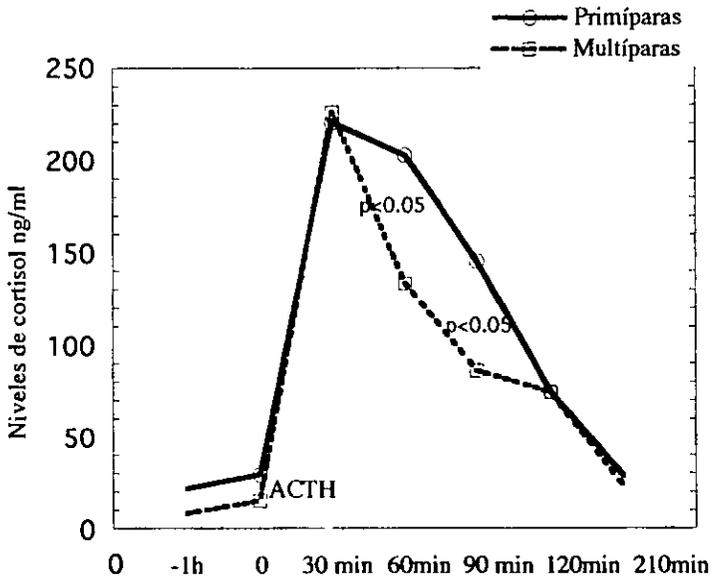


Figura 9. Niveles de cortisol en suero en vacas primíparas y multíparas a la -1h, 0, 30 min, 60 min, 90min, 120min y 210min después de la administración de una dosis fisiológica de ACTH. Estudio 2.