

03097

L



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

CENTRO DE NEUROBIOLOGIA

ANALISIS DE LA CONDUCTA DE AMAMANTAMIENTO
EN CABRAS Y OVEJAS Y SUS RELACIONES
CON LA FISIOLOGIA MATERNA

2011/01

T E S I S

QUE PARA OPTAR AL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGIA)

P R E S E N T A :

HORACIO HERNANDEZ HERNANDEZ

L

DIRECTOR: DR. PASCAL POINDRON MASSOT

QUERETARO, MEXICO

AÑO 2001



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

CREDITOS

Este estudio fue realizado gracias al apoyo del proyecto PAPIIT-UNAM No. IN212796 y al apoyo proporcionado por el programa PAEP-UNAM.

La beca para realizar mis estudios de Doctorado fue otorgada por el CONACyT. Asimismo, la Dirección General de Estudios de Postgrado-UNAM, la Fundación TELMEX y el CONCYTEQ me otorgaron una beca complementaria.

Una parte de los experimentos se realizaron en instalaciones pertenecientes a la Universidad Autónoma de Querétaro.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco sinceramente al Dr. Pascal Poindron por la confianza depositada en mi, al permitirme realizar el presente trabajo de investigación, por su gran apoyo para dirigir el presente estudio y por su gran amistad

Al Dr. José Alberto Delgadillo Sánchez de la UAAAN Unidad Laguna, por impulsarme a continuar mi formación científica, por su asesoría y por su gran amistad.

Al Dr. P.G. Marnet de la ENSAR de Rennes Francia y al Dr. G. Kann del INRA de Jouy en Josas Francia, por el apoyo proporcionado en la realización de las determinaciones de oxitocina, de prolactina y hormona del crecimiento de la presente tesis.

Al Dr. Gonzalo Martínez de la Escalera y a la Dra. Gina Lorena Quirarte, miembros de mi comité tutorial en el Centro de Neurobiología por la evaluación periódica de mi desarrollo en el programa y por sus sugerencias en la revisión del manuscrito.

A los miembros del Jurado de mi Examen de Grado por sus aportaciones y sugerencias para la revisión y corrección del presente manuscrito. En especial a la Dra. Carmen Aceves por impulsarme a concluir el presente trabajo.

A mis compañeros: J. Alfredo Flores Cabrera, Angélica Terrazas, Norma Serafín, Carmen Frías, Alonso González, Gabriela Gilling y Alma D. Rodríguez por su gran ayuda durante los experimentos, por el tiempo compartido y por su incondicional amistad.

A la empresa INTERVET (México) por la donación de las esponjas y hormonas utilizadas para la reproducción de las cabras del mi segundo experimento.

Al Sr. Raúl Paulin y a "Paquito" por la atención y el cuidado de los animales, por su gran ayuda durante los experimentos y por su amistad.

A la MC Rosalba Soto de la FESC-Cuautitlán por permitirme realizar mi primer experimento con los animales de la posta pecuaria de esa institución. Asimismo, agradezco al MVZ Diego Rueda, así como a su esposa y colega Martha Segundo por el cuidado de los animales en ese lugar y por su ayuda durante los experimentos.

Mi sincero agradecimiento al MC Jesús Vielma Sifuentes de la UAAAN Unidad Laguna, por haberme impulsado a entrar en el entorno de la investigación científica y por su amistad.

A Monique Bannier, la compañera del Dr. Pascal Poindron por su amistad para conmigo y con mi familia, y por aceptarnos en su núcleo familiar.

A la UNAM, por las enseñanzas adquiridas en sus recintos y por la realización de mis anhelos de superación

DEDICATORIA

Dedico la presente tesis a la memoria de mi madre, Pfra. Ma. MAGDALENA HERNANDEZ ARGUIJO quién siempre me motivó y alentó para continuar preparándome, aunque existieran obstáculos que vencer.

¡Gracias Madre!

Dedico el presente trabajo a las mujeres que más amo en mi vida: Mis hijas Ma. MAGDALENA, DIANA LAURA, ANDREA y a mi esposa MARTHA, por todo su amor.

A mi viejo amigo y padre Señor J. CARMEN HERNANDEZ GONZALEZ quién con su apoyo y amor fue paciente conmigo y con mi familia para que yo concluyera mis estudios de doctorado.

A mis hermanos Ma. Del CARMEN, ROLANDO, Ma. CRUZ, CAROLINA y a mi hermana más pequeña ANA BARBARA por todo el cariño.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN.....	iv
SUMMARY.....	vi
I. INTRODUCCION.....	1
II. ANTECEDENTES GENERALES.....	5
2.1. Mecanismos de Control del Inicio del Comportamiento Maternal en Ovinos y Caprinos.....	5
2.1.1. Estimulación por la presencia de la cría.....	6
2.1.2. Estímulos sensoriales específicos.....	7
a) Señales sensoriales importantes para la consolidación de la motivación maternal.....	7
b) Señales sensoriales importantes para el reconocimiento de la Cría y la selectividad del amamantamiento.....	7
2.1.3. Determinantes fisiológicos de facilitación del comportamiento maternal en los mamíferos.....	10
2.2. Lactancia.....	14
2.2.1. Lactogénesis.....	15
2.2.2. Participación de la PRL en la lactogénesis.....	15
2.2.3. Control de la liberación de PRL durante la lactogénesis.....	16
2.2.4. Papel de la GH en la lactogénesis y el control de su liberación durante la lactogénesis.....	17
2.2.5. Papel de las hormonas esteroideas (estrógenos y progesterona) durante la lactogénesis.....	18
2.3. Galactopoiésis.....	19
2.3.1. Participación de la PRL durante la galactopoiésis.....	19
2.3.2. Liberación de PRL y de OT en respuesta a la estimulación exteroceptiva.....	21
2.3.3. Control neuroendócrino de la liberación de PRL.....	23
2.3.4. Participación de la GH (somatotropina) durante la galactopoiésis y el control neuroendócrino de su liberación.....	24
2.4. Evacuación lactea.....	27
2.4.1. Inervación de la glándula mamaria.....	27
2.4.2. Liberación de oxitocina (OT) y el reflejo de eyección de la leche.....	29
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	33
IV. OBJETIVOS DEL PROYECTO.....	35
V. HIPOTESIS.....	37
VI. MATERIALES Y METODOS GENERALES.....	39

PRIMERA FASE EXPERIMENTAL

Estudio 1	Análisis descriptivo de la conducta de amamantamiento en la cabra desde el parto y hasta los dos primeros meses de lactancia.....	45
	Introducción.....	45
	Objetivo.....	49
	Hipótesis.....	49
	Material y Métodos.....	49
	Resultados.....	53
	Discusión.....	64
	Conclusiones.....	69
Estudio 2	Efecto de la anosmia preparto y la ausencia de selectividad maternal en cabras y ovejas sobre la conducta de amamantamiento, la producción de leche y el crecimiento de las crías.....	71
	Introducción.....	71
	Objetivos	74
	Hipótesis.....	74
	Material y Métodos.....	74
	Resultados.....	79
	Discusión.....	87
	Conclusiones.....	92
Estudio 3	Efectos de restringir el período diario de contacto madre-cría en cabras sobre la producción de leche y el crecimiento de las crías.....	94
	Introducción.....	94
	Objetivo.....	95
	Hipótesis.....	95
	Material y Métodos.....	96
	Resultados.....	99
	Discusión.....	101
	Conclusiones.....	105

SEGUNDA FASE EXPERIMENTAL

Estudio 4	Efectos de restringir el período diario de contacto madre-cría sobre el perfil de liberación de prolactina y hormona del crecimiento al momento de la succión en cabras.....	108
	Introducción.....	108
	Objetivo.....	111
	Hipótesis.....	111
	Material y Métodos.....	111
	Resultados.....	114
	Discusión.....	120
	Conclusiones.....	126

Estudio 5	Efecto de la selectividad maternal y de la anosmia maternal postparto sobre la liberación de PRL y OT al momento del amamantamiento en cabras lactantes.....	127
	Introducción.....	127
	Objetivo.....	129
	Hipótesis.....	129
	Material y Métodos.....	129
	Resultados.....	133
	Discusión.....	137
	Conclusiones.....	144
Estudio 6	Efecto del bloqueo de la selectividad maternal mediante una anosmia sobre la duración del período de inactividad sexual postparto en la cabra.....	145
	Introducción.....	145
	Objetivo.....	147
	Hipótesis.....	147
	Material y Métodos.....	147
	Resultados.....	150
	Discusión.....	153
	Conclusiones.....	157
VII.	CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.....	158
	REFERENCIAS.....	165
	ANEXO.....	182

RESUMEN

El objetivo general de la presente tesis fue especificar varios aspectos de la relación madre cría en la cabra, como son los ritmos de amamantamiento, la relación entre la selectividad de la conducta maternal, la endocrinología de la hembra y los efectos de la anosmia preparto sobre dichos parámetros. En una primera serie de estudios se caracterizó la conducta de amamantamiento en esta especie que muestra al inicio de la lactancia una relación espacial madre-cría de tipo escondediza. Asimismo, en cabras y en ovejas, estudiamos los efectos de una anosmia realizada antes del parto a las madres sobre esta conducta durante los dos primeros meses de lactancia. Los resultados indican que las cabras muestran una evolución de la frecuencia de amamantamiento similar a la ya reportada en la especie ovina: esto es, una elevada frecuencia de amamantamiento después del parto (75.2 ± 14.3 episodios de amamantamiento/6 h; en madres con crías gemelas) y una disminución significativa después de la primera semana de lactancia (13.6 ± 3.0 amamantamientos/6 h; en madres con crías gemelas). Por otro lado, en ambas especies la anosmia inducida antes del parto mediante la irrigación intranasal de $ZnSO_4$ no perturbó la actividad de amamantamiento, la producción de leche, ni el crecimiento de las crías. Sin embargo, en el experimento con ovejas, se observó que a pesar de no existir una obvia selectividad maternal en la frecuencia de los episodios de amamantamiento, las madres anósmicas muestran una relación preferencial con sus crías. En efecto, la frecuencia observada para la cría propia (59 de 267 episodios) fue significativamente mayor que la esperada (27 episodios χ^2 14.9, 1 df, $p < 0.001$). Se concluye que la cabra muestra una conducta espontánea de amamantamiento similar a la reportada en la oveja. Asimismo, se concluye que en cabras y ovejas, la actividad espontánea de amamantamiento, la producción de leche y el crecimiento de las crías no es perturbada debido a la anosmia periférica preparto, contrario de lo que sugerían trabajos anteriores.

En otra serie de estudios, se investigó el efecto de reducir el tiempo diario de contacto madre-cría sobre aspectos de producción zootécnica (obtención de leche en ordeña y crecimiento de las crías) así como las posibles consecuencias sobre la fisiología de la lactancia como la descarga de hormonas galactopoiéticas (prolactina - PRL - y hormona del crecimiento - GH) al momento de la estimulación de la ubre. Para ello, se compararon las anteriores variables en 4 grupos de cabras: el grupo control permaneció continuamente con sus crías y no era ordeñado; los grupos restringidos tenían un período de contacto madre-cría diario limitado a 10 y 5 horas, además de recibir una ordeña; por último, un grupo de cabras fue totalmente separado de sus crías desde el cuarto día postparto y fue sometido a una ordeña por día. En éste último grupo, las crías fueron alimentadas dos veces por día con la leche de sus madres obtenida en la ordeña. En los tres grupos sometidos a una ordeña diaria, la producción de leche/cabra colectada en la ordeña hasta los 60 días fue similar en los grupos en donde se restringió el contacto madre-cría (10 ó 5 horas; 75.5 ± 5.1 y 75.5 ± 11.0 Kg, respectivamente) y no difirió de la producción del grupo de ordeña exclusiva (89.2 ± 15.4 Kg). Por otra parte, en el grupo control, el peso de las crías al destete fue aproximadamente 3.0 kg mayor que en el resto de los grupos. El estudio de la respuesta hormonal en estos grupos indicó resultados congruentes con la producción de leche del estudio anterior. Así, se pudo observar que los niveles basales y post-estimulación de la PRL fueron significativamente más elevados durante el amamantamiento en los grupos donde se restringió el período diario de contacto madre-cría (particularmente en el grupo con solo 5 horas de interacción) que en los grupos de interacción continua o exclusivamente ordeñado. Resultados similares se

encontraron en los niveles periféricos de GH. De estos estudios, se concluye que es posible obtener una colecta de leche temprana en las cabras cuando se restringe el período de contacto madre-cría. La cantidad colectada es similar a la obtenida en los animales solamente ordeñados una vez al día. Asimismo, se concluye que estos tratamientos no perjudican de manera importante al crecimiento de las crías. Además, se concluye que la restricción diaria del contacto madre-cría influye sobre la liberación de PRL y GH durante la estimulación de la ubre. Esto es posiblemente debido a una recarga mayor de PRL y GH en las hipófisis de las madres restringidas o a una anticipación en la liberación de estas hormonas debido a un condicionamiento por la separación diaria.

En un tercer grupo de estudios, se investigó el efecto de la conducta selectiva de la madre sobre la liberación de PRL y de oxitocina (OT) al momento del amamantamiento. Para ello, se utilizó un grupo de cabras intactas/selectivas (GS; n=10) y otro grupo de cabras anósmicas/no selectivas (GNS; n=10). A las cabras de este último, se les practicó una anosmia preparto mediante la irrigación intranasal de ZnSO₄. A las madres de ambos grupos, se les realizó un muestreo seriado de sangre durante amamantamientos controlados con sus crías y con crías extrañas, realizados en dos días consecutivos. Los resultados indican que en la cabra, la liberación de PRL al momento del amamantamiento no es modulada por la selectividad maternal. En efecto, las madres de ambos grupos respondieron con un incremento de esta hormona durante el amamantamiento tanto de su (s) cría (s) como de crías ajenas. Sin embargo, se detectó que la amplitud de la liberación de la PRL durante el amamantamiento fue mayor en las madres intactas que en las anósmicas. Por otra parte, se observó que la liberación de OT es modulada por la selectividad maternal. En efecto, en las cabras intactas/selectivas la OT es liberada de manera consistente durante el amamantamiento con sus crías, y no cuando se les forzó amamantar a crías extrañas. En cambio, en las madres anósmicas/no selectivas la OT es liberada independientemente de la identidad de las crías que se amamantan. Asimismo, se observó que la amplitud de liberación fue mayor en cabras intactas que en las anósmicas. De este estudio se concluye que la selectividad maternal, mantenida por la percepción de las señales olfatorias individuales de las crías, modula la liberación de OT periférica, pero no de PRL durante la succión.

Por último, se realizó otro estudio para investigar si se podía acortar la duración del período de inactividad sexual postparto suprimiendo la conducta selectiva mediante una anosmia periférica. Usando cabras intactas (selectivas) y anósmicas (no selectivas), se monitoreó diariamente el inicio de la conducta estral postparto en ambos grupos, utilizando un macho intacto para detectar las cabras en celo. Dicho macho estaba equipado con un mandil para evitar la penetración. La duración del anestro postparto fue menor en las cabras intactas que en las anósmicas, mientras que la frecuencia de presentación de ciclos estrales de corta duración fue mayor en las cabras selectivas que en el grupo de cabras no selectivas. Por consiguiente se sugiere que la anosmia y la ausencia de un vínculo selectivo en la cabra no acortan la duración del anestro postparto, cuando existe interacción diaria con el macho. Asimismo, se sugiere que la percepción continua del olor del macho en las cabras intactas puede acortar la duración del anestro postparto.

SUMMARY

In this thesis, several sets of studies were performed to analyze various aspects of mother – young relationships in goats, such as nursing behavior, the relation between maternal selectivity and the endocrinology of the female, and the effects of prepartum anosmia and these parameters. In a first series of experiments, nursing behavior was characterized in this species which shows a mother-young spatial relationship of the hider type at the beginning of lactation. Also, in goats and sheep, we studied the effects of prepartum peripherally induced anosmia on this behavior during the 2 first months of lactation. The results indicate that goats display on the day of parturition a high nursing frequency (75.2 ± 14.3 nursing episodes/6 h; in mothers with twins), which decreases during the first week of lactation (13.6 ± 3.0 nursing episodes/6 h; in mothers with twins). This evolution is similar to that reported in ewes. Also, these studies in sheep and goats, show that the absence of maternal selectivity because of peripheral anosmia affects neither overall nursing frequency and duration, nor lactation performance or growth of the young. On the other hand, from the study in ewes, we conclude that while anosmia resulted in the failure of the mothers to develop true selective nursing up to 8th week of lactation, some preferential mother-young relationship yet developed.

In another set of studies, we investigated if restricting the daily duration of contact mother-kid could be imposed from the first week postpartum to obtain an early collection of milk, as well as its possible effects on prolactin (PRL) and growth hormone (GH) release during udder stimulation. To this end, we used four groups of goats. In the control group, the mother-kid interaction was free and the mother was not milked. In 2 other groups, the mother-kid interaction were restricted to 10 and 5 hours/day and the mothers received one machine milking daily during the first 60 days of lactation. In a last group, the kids were permanently separated from their dam on Day 4 postpartum and they were bottle-fed twice daily with the mothers' milk, whereas the mothers were milked once a day until the end of the study. The quantity of milk collected per goat during the 2 months of the study did not differ between the restricted groups (10 or 5 h / day) and the milking only group (75.5 ± 5.1 y 75.5 ± 11.0 Kg, and 89.2 ± 15.4 Kg respectively). On the other hand, the weights of the kids were approximately 3 kg higher in the group with free mother–young contact than in the other 3 groups. The study of the hormonal response, revealed that the basal and post-stimulation levels of PRL and GH were higher in the restricted groups (in 5 hours group especially; PRL before udder stimulation: 225.0 ± 79.9 ng/ml, and at 1 min of stimulation: 264.3 ± 73.8 ng/ml) than in free mother–kid interaction and milking only group (free mother-kid contact = PRL 28.0 ± 3.6 ng/ml and 37.0 ± 8.5 ng/ml, respectively). From these studies it is concluded that reducing the daily mother–kid contact from the first week of lactation allow to obtain significant quantities of milk that are in addition similar to those obtained in a one milking-only regimen, without detrimental effects for the growth of the kids. These results are also congruent with the effects of these treatments on PRL and GH release during udder stimulation. The fact that the highest levels were found in mothers that experienced the shortest daily interactions with their kid could suggest that chronic repeated separation resulted in a higher storage capacity of the pituitary, together with some conditioned response to exteroceptive stimuli associated with the presence of the young.

In a third study, we determined the relationships between the existence of maternal selectivity at nursing and the PRL and OT release during suckling by the young. Ten intact (selective mothers) and 10 anosmic (non selective mothers) goats and their kids were used.

Serial blood samples were taken before, during and after nursing their own or alien kid (s). The sampling in all dams were performed at day 37 of lactation. The results show that PRL release is not modulated by selective behavior. In fact, in both groups the mothers displayed similar hormonal levels regardless the identity of the kid (s). Nevertheless, anosmia decreased to some degree the amplitude of the response. By contrast, OT release was modulated by selective behavior. Thus, in intact mothers there was a consistent release of OT when the own young suckled, but not when the mother was forced to nurse alien kids. On the contrary, anosmic mothers showed some increase in OT levels regardless of the identity of the kid (s) that they nursed. It is concluded from these results that in goats, the maternal selectivity established by the perception of individual olfactory signals from the kids, affects OT but not PRL release during nursing.

Finally, in a last study we tested the hypothesis that impeding the development of the selective bond through peripheral anosmia in the goat, may result in an early resumption of sexual activity in the mother. Twenty four intact mother goats and their kids (selective group) and 18 anosmic mother goats and their kids (non selective group) were used. The kids remained with the mothers during the whole study. Estrus behavior was determined once daily from Day 7 to Day 114 postpartum, using an intact active buck fitted with an apron to avoid intromission. The length of postpartum anestrus was shorter in intact dams than in anosmic ones, while the incidence of short estrus cycles was more frequent in intact goats. Therefore, we conclude that anosmia and the absence of a maternal selective bond, have no effect on anestrus postpartum length, when mothers have a daily interaction with the buck. Also, it is suggested that chronic perception of the olfactory cues from the buck may reduce the anestrus postpartum length in intact mothers.

I. INTRODUCCION

En los mamíferos, la relación madre-cría es un factor relevante ya que en ella se encuentran implicados aspectos que determinan la sobrevivencia y perpetuación de las especies. La conducta maternal se caracteriza por un cuidado intensivo de la cría por su madre, la cual representa la única fuente de alimentación durante el inicio de su vida. Es por ello que la formación temprana y el mantenimiento de una buena relación madre-cría son importantes para el desarrollo óptimo de la progenie. Al respecto, se ha reportado que en las ovejas, entre otros factores, un comportamiento maternal inadecuado al momento del parto, es una causa posible de mortalidad neonatal (Alexander, 1984; Poindron *et al.*, 1996a; Stevens *et al.*, 1982). Además, un aspecto que comúnmente se observa en los ungulados como los bovinos, ovinos y caprinos es la formación de un vínculo exclusivo entre la madre y su (s) cría (s) durante el período postparto inmediato (Lent, 1974). Una vez que ese lazo ha sido formado, la madre rechaza cualquier cría extraña que intente amamantarse e inclusive, puede mostrar un comportamiento agresivo hacia ella (Lévy *et al.*, 1996; Poindron y Romeyer, 1992). De esta manera, la manifestación rápida de un buen comportamiento maternal, representa un elemento esencial para el éxito reproductivo en los mamíferos. En conjunto, el conocimiento del desarrollo de las relaciones madre-cría durante el período postparto y de algunos factores que las controlan, es de suma importancia en los procesos productivos en estas especies que pueden ser aprovechables como fuente de alimento para el hombre. La activación de la conducta maternal en estos animales parece ser provocada, por un lado, por una estimulación sensorial ocasionada por la presencia de la (s) cría (s), y por otro lado, debido a una facilitación de la motivación maternal mediante los factores fisiológicos asociados con el parto (Lévy *et al.*, 1996, Numan, 1994; Poindron *et al.*, 1993). Después del parto, durante la etapa

temprana de intensa interacción entre las madres y sus crías, ocurre un rápido reconocimiento y comunicación entre éstos dos, estableciéndose así el vínculo selectivo.

En las cabras y ovejas, los factores sensoriales, especialmente los olfatorios, están implicados en el reconocimiento de la cría, los cuidados maternos y el mantenimiento de estos cuidados durante la lactancia (Bouissou, 1968; Gubernick, 1981; Klopfer *et al.*, 1964; Morgan *et al.*, 1975; Poindron, 1976a; Romeyer, 1993). Sin embargo, cabe mencionar que la mayoría de los estudios sobre el control de la conducta maternal han sido realizados en ovejas (Lévy *et al.*, 1996; Poindron *et al.*, 1993). A pesar de su importancia, en las cabras aún no se ha investigado de manera muy amplia los mecanismos de regulación de las relaciones madre-cría al parto o durante la lactancia. Además, algunos estudios en los bovinos demuestran que la conducta maternal y el vínculo selectivo pueden modificar la descarga de hormonas galactopoiéticas y por ello, posiblemente influyan sobre la producción láctea, y también sobre la duración del período de inactividad sexual postparto de las hembras (Griffith y Williams, 1996; Perez *et al.*, 1985; Silveira *et al.*, 1993). Dado que en ovejas y cabras, la selectividad de la relación madre-cría depende en mucho del sentido del olfato en la madre, es posible que ese sentido influya de manera importante sobre estos aspectos de la fisiología maternal. Sin embargo, no se sabe en estas especies si el eliminar el sentido del olfato repercute sobre el mantenimiento del vínculo selectivo durante la lactancia, el reconocimiento mutuo, la producción láctea y también sobre el período de inactividad sexual postparto.

Asimismo, mientras que los ritmos del amamantamiento y las relaciones madre-cría están bien descritas en especies como los ovinos y los bovinos (Ewbank, 1964; Gordon y Siegmann, 1991; Munro, 1956; Reinhardt y Reinhardt, 1981; Odde *et al.*, 1985; Poindron y Le Neindre, 1975, 1979) en las cabras no existen estudios similares. Los estudios de las relaciones espaciales madre-cría en la cabra en los inicios de la lactancia señalan que las cabras presentan

un tipo de relación “hider”, lo cual se traduce como “escondedizo” (Lent, 1974; Lickliter, 1984; O'Brien, 1984; Rudge, 1970). Lo anterior es debido a que durante los primeros 4 a 7 días de vida las crías buscan sitios específicos para esconderse y a que, frecuentemente, la madre se reúne con el resto del rebaño para pastorear regresando con la cría de cuatro a seis veces al día para amamantarla. Esta fase de ocultación se presenta del día 2 al 7 postparto (Collias, 1956; Lickliter, 1985). Por el contrario, en las ovejas los corderos empiezan a seguir a su madre ya desde las primeras horas de vida y por ello, se dice que estos presentan una relación de tipo “followers” o “seguidores”. Por ello, estos estudios sugieren que durante los inicios de la lactancia, la frecuencia de amamantamiento probablemente es menor en las cabras que en las ovejas. No obstante, resultados recientes de nuestro laboratorio y la poca literatura existente al respecto, sugieren que a partir del día siete postparto los ritmos de amamantamiento en las cabras son significativamente elevados como los encontrados en las ovejas (Delgadillo *et al.*, 1997; Lévy y Alexandre, 1985), aunque estos estudios no describen la frecuencia del amamantamiento en el período inmediato al parto.

En la especie caprina, no se conocen los ritmos iniciales de amamantamiento de las crías y no se puede excluir que, bajo condiciones de manejo intensivo, en donde en ocasiones existe poco espacio para alojar a los animales, la frecuencia inicial de amamantamiento sea modificada debido a la imposibilidad de los cabritos para esconderse. Este conocimiento tiene una importancia zootécnica potencial en los sistemas de producción de los países subtropicales. En los que las cabras permanecen amamantando a sus crías a libre acceso, al menos durante el primer mes postparto, y las madres no son ordeñadas en este tiempo debido a que la totalidad de la leche producida, se destina para la cría. Este manejo contrasta con el que se realiza en los sistemas de producción intensiva de leche en los países templados, donde la cría por lo general, es retirada de su madre desde el nacimiento, utilizándose así, todo el potencial lechero

de la cabra (FAO, 1982; Ferrando y Boza, 1990). De esta manera, en los países tropicales y subtropicales, en donde en muchos casos la producción de leche representa la principal fuente de ingresos para los caprinocultores, una parte de ésta es destinada para la alimentación de las crías, y el resto (después de que se desteta la camada) se destina para su venta. Por ello, conocer más a fondo los ritmos naturales de succión de los cabritos, así como su capacidad de adaptación a ritmos restringidos de succión, podría ser de gran utilidad para aprovechar mejor el potencial lechero de las madres. Por lo que podría resultar interesante para los productores de estas áreas imponer una restricción en los ritmos de amamantamiento a las crías desde la lactancia temprana y de esta manera, poder obtener una cantidad de leche adicional.

Por consiguiente, y tomando en cuenta los puntos anteriores, el objetivo general del presente estudio es determinar en cabras y ovejas los ritmos de amamantamiento durante las etapas iniciales de la lactancia, así como evaluar las posibles relaciones entre la presencia de un vínculo selectivo con la respuesta hormonal a la succión y con la producción zootécnica de las madres (producción de leche, crecimiento de las crías y duración del anestro postparto).

II. ANTECEDENTES GENERALES

2.1.- Mecanismos de Control del Inicio del Comportamiento Maternal en Ovinos y Caprinos.

En estos antecedentes se revisa el papel de algunos de los factores fisiológicos y sensoriales implicados en el despliegue del comportamiento maternal. La presente revisión se enfoca principalmente a la especie ovina, debido a que la mayor parte de los estudios han sido realizados en esta especie, pero también se hace mención de los datos obtenidos en las especies bovina y caprina. Posteriormente, en la descripción de cada estudio se incluyen antecedentes específicos para cada parte experimental.

Como ya se mencionó, una característica de la conducta maternal en los rumiantes domésticos es la presencia de un vínculo maternal selectivo, que se manifiesta por la aceptación exclusiva de su camada al amamantamiento y por el rechazo de cualquier cría extraña que intente amamantarse. Por consiguiente, cabe considerar dos componentes en la conducta maternal de estas especies (Bouissou, 1968). El primer componente consiste en la aptitud de una madre para mostrar una conducta maternal sin referir a una cría en particular. Esto se observa de una manera muy clara al momento del parto, cuando la madre es capaz de aceptar a cualquier cría que se le presenta (Poindron y Le Neindre, 1980). Esta aptitud de una madre a mostrar una conducta maternal, sin tomar en cuenta la vinculación a una cría en particular será denominada "maternalidad" (Bouissou, 1968). Por otra parte, cuando se considera el hecho de que la madre rápidamente dirige su conducta materna sólo hacia su camada (lo cual ocurre entre una y cuatro horas postparto; Hersher *et al.*, 1963; Smith *et al.*, 1966) se hablará de "selectividad maternal" o "selectividad" y corresponde al hecho que la madre permite amamantar únicamente a sus crías, y rechaza a cualquier otra.

2.1.1.- Estimulación por la presencia de la cría.

Tanto en la oveja como en la cabra, si la cría es separada de su madre inmediatamente después del parto, se provocará una drástica disminución de la respuesta maternal hacia la cría cuando ésta es presentada después de un período de tiempo, siempre y cuando esta separación se realice al momento mismo del parto. Esto indica que la presencia de la cría es importante para el desarrollo completo de la conducta maternal al parto. Efectivamente, en ovejas se ha reportado que la separación madre-cría por un período de 24 h iniciándose al parto, induce una perturbación de la motivación maternal y subsecuentemente la oveja no acepta al cordero cuando éste es presentado a ella. De manera contraria, cuando el cordero es separado durante 24 h a los dos o cuatro días postparto, y que después, el cordero es presentado nuevamente con su madre, la aceptación maternal se mantiene (Poindron y Le Neindre, 1980; Poindron *et al.*, 1979).

Resultados similares han sido reportados en las cabras, en las cuales se ha observado que si a las hembras no se les permite el contacto con su cría al nacimiento, ellas subsecuentemente rechazan a sus crías cuando éstas son presentadas a ellas varias horas después. Contrariamente, cuando a las hembras parturientas se les permite un pequeño período de contacto con su cría de entre 5 a 10 min, no se modifica la aceptación maternal hacia la cría (Klopfer y Klopfer, 1968; Klopfer *et al.*, 1964). La experiencia maternal también puede influir sobre la respuesta a la separación. Al respecto, Lickliter (1982) demostró que dos horas de separación del cabrito de su madre, interrumpen el comportamiento maternal en la mayoría de las cabras primíparas, mientras que este mismo tiempo de separación no tiene ningún efecto en las madres con experiencia previa. Así, la aptitud para manifestar una conducta maternal durable, se establece durante un período de tiempo corto después del parto, cuando normalmente ocurre la vinculación de la madre con su (s) cría (s). A este período se le ha

llamado "crítico o sensible" (Collias, 1956; Herscher *et al.*, 1963; Klopfer *et al.*, 1964; Poindron y Le Neindre, 1980). Cabe mencionar que este proceso parece ser una característica común en la mayoría de los mamíferos que se han estudiado (Rosenblatt y Siegel, 1981).

2.1.2.- Estímulos sensoriales específicos.

a) Señales sensoriales importantes para la consolidación de la motivación maternal.

La característica principal del comportamiento maternal en las ovejas, es la consolidación de la motivación maternal y una relación selectiva madre-cría durante un período crítico después del parto (Herscher *et al.*, 1963; Poindron y Le Neindre, 1980). El hecho que la privación de la cría al momento del parto conlleve a la desaparición de la motivación maternal, muestra que la cría proporciona informaciones esenciales para el mantenimiento y la consolidación de esta motivación. Estudios de privación de varias informaciones sensoriales (succión, contacto, señales visuales de la cría, olor del cordero), han mostrado que la sola privación de las señales olfatorias proporcionadas por el cordero impide la consolidación de la motivación (Poindron *et al.*, 1988). Por lo tanto, se piensa que el olfato maternal es un elemento clave en el desarrollo normal de la conducta materna al parto. Por otra parte, Lévy y Poindron (1987a), han mostrado que el líquido amniótico que recubre al recién nacido es una fuente importante de señales olfatorias. En efecto, la eliminación de este líquido perturba la conducta maternal, especialmente en madres sin experiencia maternal previa.

b) Señales sensoriales importantes para el reconocimiento de la cría y la selectividad al amamantamiento.

Cuando se permite a la madre (oveja) interactuar normalmente con su (s) cría (s) después del parto, ésta rápidamente aprende a reconocer a su progenie y dentro de una a cuatro horas de interacción, empieza a rechazar de manera muy activa a cualquier cría con la cual no ha interactuado en esta etapa inicial (Herscher *et al.*, 1963; Lévy *et al.*, 1996; Smith *et al.*,

1966). Después de que este vínculo es formado, la madre únicamente aceptará que se amamante su propio cordero y ella rechazará o inclusive, mostrará un comportamiento agresivo hacia otras crías extrañas que intenten amamantarse. Esta característica también ha sido observada en las hembras bovinas y caprinas (Hudson y Mullord, 1977; Romeyer *et al.*, 1994a). En este momento, el sentido del olfato de la hembra juega un papel esencial. Efectivamente, varios autores han demostrado que en las hembras ovinas y bovinas la aceptación final de una cría para amamantarse está en función del sentido del olfato maternal (Bouissou, 1968; Dunn *et al.*, 1987; Morgan *et al.*, 1975). Cuando la anosmia es inducida a las ovejas preñadas, se elimina el futuro comportamiento selectivo y no se forma por lo tanto, un vínculo exclusivo (Poindron, 1976a,b), mientras que el comportamiento de amamantamiento por si mismo no es eliminado o deprimido de una manera severa, al menos durante las tres primeras semanas postparto. Sin embargo, los patrones secuenciales (como el que la cría pase por enfrente de la madre antes de amamantarse) entre las madres y sus crías al momento del amamantamiento se modifican debido a la anosmia (la cría va directamente a la ubre en una posición que evita una inspección olfatoria por su madre; Poindron, 1976b).

Por otra parte, cuando la anosmia es realizada después de que el vínculo selectivo ha sido formado, los resultados indican que otras señales sensoriales como las acústicas y visuales pueden ser utilizadas por las madres para reconocer a su cordero. Sin embargo, una vez que el contacto entre la madre y la cría es realizado, las señales olfativas son las primeras en determinar si la oveja permitirá o no el amamantamiento a cierta cría (Alexander y Shillito, 1977; Alexander y Stevens, 1982; Lindsay y Fletcher, 1968; Poindron y Le Neindre, 1980). Resultados más recientes también indican que las ovejas anósmicas son capaces de discriminar entre su cordero y un cordero ajeno usando las señales visuales y acústicas en una prueba de elección entre ambas crías, desde el primer día postparto (Ferreira *et al.*, 2000; Terrazas *et al.*,

1999). Además, el estudio de Ferreira *et al.* (2000), demostró que en las pruebas de selectividad a 1 mes postparto, las ovejas anósmicas amamantan menos a los corderos ajenos, mostrando más rechazos que hacia los propios. Estos autores sugirieron la existencia de algún cambio compensatorio a la deficiencia olfatoria por otras señales (visuales y acústicas) para el desarrollo del amamantamiento exclusivo. Sin embargo, resultados obtenidos en nuestro laboratorio en esta misma especie indican que, aunque existe una relación preferencial entre la madre anósmica y su cría, la anosmia no permite el establecimiento de una obvia selectividad hasta la octava semana de lactancia (Hernandez *et al.*, 2001).

En lo que respecta a la especie caprina, algunos estudios sobre la discriminación de los cabritos (Gubernick, 1980, 1981), han señalado la posibilidad de que la cría sea "marcada" por la madre a través del lamido o de los primeros amamantamientos, con lo cual posteriormente la cabra conocerá su propio olor sobre el cabrito y, de esta manera, podría establecer el reconocimiento maternal. Sin embargo, las investigaciones de Romeyer y Poindron (1992), y Romeyer *et al.* (1993), han señalado que en condiciones normales este reconocimiento es realizado independientemente del mecanismo del marcaje. No obstante, estos últimos estudios indican la importancia de las señales olfatorias sobre la selectividad del vínculo, pues muestran que las cabras memorizan el olor individual de sus crías igual que en ovejas.

Con base en todo lo anterior, podemos señalar que la olfacción no es esencial para la respuesta maternal en sí, pero es esencial para el establecimiento de un vínculo exclusivo madre-cría (Baldwin y Shillito, 1974; Numan, 1994; Romeyer *et al.*, 1994a). Sin embargo, en las cabras el papel del olfato como un factor de motivación de la respuesta maternal y de la selectividad del vínculo durante las etapas posteriores de la lactancia, aún no ha sido determinado.

2.1.3.- Determinantes fisiológicos de facilitación del comportamiento maternal en los mamíferos.

La mayoría de los estudios sobre los factores fisiológicos que facilitan la manifestación de la conducta materna en mamíferos, han sido realizados en roedores como la rata y el ratón, o en la oveja. Existen grandes variaciones entre especies y dentro de una misma especie, dependiendo de la experiencia maternal previa. Así, ratones hembras, e inclusive machos, tienen la capacidad de mostrar de manera espontánea una conducta parental cuando están expuestos a unas crías, independientemente de su estado fisiológico. Lo mismo ocurre en las ratas multíparas que ya tienen alguna experiencia maternal. Uno de los factores importantes para la manifestación de la conducta maternal es el cambio en las concentraciones de las hormonas esteroideas sexuales (progesterona y estrógenos). Aunque el papel de cada hormona puede variar entre especies (Rosenblatt y Siegel, 1981). Por lo general, el estradiol facilita la conducta maternal, mientras que la progesterona la inhibe en la rata y la facilita en el ratón. Otros estudios han mostrado también que la oxitocina (OT) administrada intracerebralmente tiene un papel de facilitación de la conducta materna en la rata (Pedersen *et al.*, 1992). Finalmente, la prolactina (PRL) parece también contribuir a la manifestación de esta conducta en los roedores (Rosenblatt y Siegel, 1981). De hecho, está bien documentado en algunos roedores y rumiantes, así como en humanos, que la secreción de la PRL de la adenohipófisis se incrementa justamente antes del parto y durante cada episodio de amamantamiento (Tucker, 1994). Aunque este incremento de la PRL actúa sobre la glándula mamaria de esas especies para promover la síntesis de leche, en roedores existen evidencias de que la PRL también actúa en el cerebro para promover el comportamiento maternal (Bridges *et al.*, 1990). Además, existe evidencia experimental de que la PRL facilita la construcción del nido en conejas

(Zarrow *et al.*, 1971; González-Mariscal y Rosenblatt, 1996) y también la agresión maternal en el hámster (Wise y Pryor, 1977).

En la oveja, la aparición de una receptividad maternal alta está estrechamente asociada con el parto, lo cual indica que los eventos fisiológicos que ocurren durante éste juegan un papel importante. En varios estudios se han investigado los cambios hormonales que se presentan alrededor del parto, en los que se ha mostrado, que antes del parto existe una drástica disminución en las concentraciones de progesterona en la sangre y por otro lado, una gran elevación en las concentraciones del estradiol (Stabenfeldt, 1974; Terqui, 1974). Asimismo, estudios experimentales indican que estos cambios hormonales constituyen las bases para el inicio del comportamiento maternal. Por ejemplo, los tratamientos de progesterona y estradiol, o de estradiol sólo, permiten inducir la conducta materna en hembras no gestantes ni parturientas (Le Neindre *et al.*, 1979; Poindron y Le Neindre, 1980).

Estos estudios también indicaron que los tratamientos hormonales (progesterona y estradiol) utilizados para la inducción de la conducta maternal, no siempre la provocan de manera consistente e inmediata, al contrario de lo que ocurre al parto. De hecho, se requieren de dosis muy altas para obtener una respuesta (Poindron y Le Neindre, 1980; Kendrick y Keverne, 1991). Ello sugiere que otros factores son necesarios para una completa manifestación de la conducta maternal. En otras investigaciones se demostró que la estimulación vaginocervical (EVC) ocasionada por la expulsión del feto en el momento del parto, constituye un factor clave para una rápida y completa manifestación de la conducta maternal. Así, una EVC de 5 min aplicada a hembras múltiparas no preñadas, ni lactantes, previamente tratadas con progesterona y estradiol, induce una activa y completa manifestación de la conducta maternal (Kendrick y Keverne, 1991; Kendrick *et al.*, 1992b; Keverne *et al.*, 1983; Poindron *et al.*, 1988). Al contrario, si la EVC es bloqueada al parto a través de una anestesia peridural, esto

eliminará el despliegue de la conducta maternal, especialmente en las hembras primíparas (sin previa experiencia maternal; Krehbiel *et al.*, 1987; Lévy *et al.*, 1992).

Varios estudios han analizado el mecanismo de acción de la EVC. Se conoce que es un requisito una preparación por parte del estradiol (Kendrick y Keverne, 1991; Poindron *et al.*, 1988), y que además ejerce su papel a través de la liberación intracerebral de oxitocina. Lo anterior se ha sugerido ya que durante el parto y durante la EVC artificial, existe una secreción importante de esta hormona en el líquido cefalorraquídeo (Kendrick *et al.*, 1986). Por otra parte, la infusión intracerebral de oxitocina estimula el comportamiento maternal en ovejas no preñadas (Kendrick *et al.*, 1987), y también en las ovejas parturientas que se les deprivan de la EVC al momento del parto mediante una anestesia peridural (Lévy *et al.*, 1992). De igual manera, el proceso del parto también ocasiona un incremento en la liberación local de oxitocina en varias estructuras cerebrales, incluyendo al bulbo olfatorio y al núcleo paraventricular (Kendrick *et al.*, 1988). Se ha propuesto que esta liberación en conjunto con la liberación de neurotransmisores como noradrenalina y acetilcolina participa en el establecimiento y formación de memorias olfativas que tienen un papel en la subsecuente discriminación de los corderos (Lévy *et al.*, 1996). Efectivamente, en las madres que ya establecieron un vínculo selectivo a las dos horas postparto, una EVC artificial permite la adopción de una cría extraña (Keverne *et al.*, 1983), mientras que la administración de antagonistas noradrenérgicos y colinérgicos inhiben la formación de la selectividad maternal (Pissonnier *et al.*, 1985; Lévy *et al.*, 1996). Esto nos permite pensar que en las madres, la EVC influye sobre la memorización del olor del cordero.

En las cabras, los factores que permiten la manifestación de la conducta no son muy bien conocidos, pues el único intento de inducir una conducta maternal en hembras vacías mediante tratamientos hormonales no resultó exitoso (no publicado, mencionado por Rosenblatt y

Siegel, 1981). Sin embargo, es probable que el control de la conducta maternal sea similar a lo que se conoce en la oveja, ya que existe un período sensible en las dos especies y a que la EVC influye sobre la selectividad como en la oveja (Romeyer *et al.*, 1994b). También se ha reportado que la EVC puede facilitar la conducta materna en la cabra, aunque los efectos parecen menos claros que en la oveja (Kendrick *et al.*, 1997; Poindron *et al.*, 1998). Algunos estudios en animales de laboratorio, señalan que la estimulación del amamantamiento ocasiona la liberación de un complejo de hormonas que son esenciales para la lactogénesis y la evacuación de la leche materna. Entre esas hormonas se encuentran: la prolactina (PRL), la hormona del crecimiento (GH), la liberación de la adenocorticotropina (ACTH) y la oxitocina (Higuchi *et al.*, 1985; Drewett *et al.*, 1982; McNeilly *et al.*, 1983; Robinson *et al.*, 1981; Mena *et al.*, 1980) y además los opioides como la β -endorfina en las ovejas (Gordon *et al.*, 1987). También el estímulo del amamantamiento provoca la inhibición de la secreción de las hormonas gonadotropinas, ocasionando con ello una suspensión de la ciclicidad ovulatoria y de la actividad sexual después del parto (McNeilly, 1994, Yavas y Walton, 2000). No obstante, no es claro si existe una relación entre estos cambios hormonales y el mantenimiento del comportamiento maternal durante el período postparto. En ovejas, se ha mencionado que la dibromoergocriptina (CB 154), la cual bloquea la secreción de PRL, no afecta la aceptación de la cría a corto plazo (Poindron y Le Neindre, 1980). En cambio, se sabe también que la presencia de la cría es importante para mantener la aceptación maternal, y que ésta influye sobre la fisiología materna.

2.2.- Lactancia

La lactancia es la última fase del ciclo reproductivo en los mamíferos. Durante esta fase la madre produce leche en sus glándulas mamarias, la cual contiene los nutrientes necesarios para la temprana sobrevivencia de las crías. Esta fase de secreción láctea es dependiente de la liberación de numerosas hormonas, las cuales son reguladas por el sistema neuroendócrino. La estimulación táctil de los pezones y de la ubre por la succión u ordeña es propagada hacia el sistema nervioso central, en donde ocasionan la liberación de factores facilitatorios o bien el bloqueo de factores inhibitorios que actúan sobre la adenohipófisis y neurohipófisis para provocar la liberación de un conjunto de hormonas como la PRL, la GH, la adenocorticotropina (ACTH) y la hormona estimulante de la tiroides (TSH). A este conjunto de hormonas se le conoce como complejo hormonal galactopoiético. Entre otras hormonas, la PRL y la GH participan en el crecimiento de las glándulas mamarias, para la iniciación de la secreción de leche al momento del parto (lactogénesis), y para el mantenimiento de la secreción de leche durante el periodo postparto (galactopoiesis). La importancia de la participación de esas 2 hormonas en estos procesos es variable según la especie. Después de que la leche es secretada por las células epiteliales, ésta es almacenada en el lumen de los alvéolos, en los ductos de la glándula y en el caso de los rumiantes en las cisternas glandulares y en las cisternas de las tetas. Por último, la leche es evacuada desde los alvéolos hasta el exterior en respuesta al amamantamiento u ordeña. Dicho mecanismo requiere de un proceso de evacuación, el cual es un clásico reflejo neuroendócrino en donde participa la hormona oxitocina (OT). Como en algunos estudios del presente trabajo se evaluarán aspectos de la fisiología de la lactancia, en esta parte se revisa de manera general algunos puntos concernientes a la lactogénesis, la galactopoiesis así como el mecanismo de la evacuación láctea.

2.2.1.- Lactogénesis

Consiste en una serie de eventos, por los cuales las células del epitelio secretor pasan de un estado no secretor a una etapa secretora. En esta etapa, los componentes de la leche permanecen en el lumen de los alvéolos. Al parto, con el inicio en las descargas masivas de las hormonas galactopoiéticas y al mecanismo de evacuación de la leche entre otros factores, la síntesis de la leche se incrementa marcadamente, lo cual corresponde a una mayor hipertrofia de las células epiteliales mamarias (Delouis y Richard, 1993).

2.2.2.- Participación de la PRL en la lactogénesis

La participación de la PRL sobre la capacidad de síntesis de leche en esta etapa varía según la especie. Así, la PRL es lactogénica en la rata y el ratón en ausencia de progesterona. Por ejemplo, el requerimiento mínimo hormonal para la lactogénesis en ratas ovariectomizadas, adrenalectomizadas e hipofisectomizadas son la PRL y un corticoide adrenal (Lyons, 1958). En cabras, la reducción en la secreción de PRL con el agonista dopaminérgico bromocriptina, entre la semana 8 y 20 de preñez (lo cual coincide con la primera etapa de lactogénesis) retarda el inicio de la secreción mamaria (Forsyth *et al.*, 1985). Sin embargo, este retardo es rápidamente superado a la semana 20 a 21 de preñez. Efectivamente, esta supresión temporal de la secreción de PRL durante la preñez no afecta la subsecuente producción de leche. Lo anterior sugiere que, al menos en las cabras, la PRL no juega un papel importante durante el primer estado de la lactogénesis. Sin embargo y a diferencia de la cabra y la vaca, en la oveja la supresión en la liberación de PRL preparto reduce significativamente la producción de leche (Kann *et al.*, 1978). En algunos rumiantes en donde después del parto los animales son sometidos a la ordeña mecánica, la administración de bromocriptina reduce hasta un 80 % las concentraciones basales de PRL y bloquea completamente la descarga de PRL inducida por la ordeña (Johke y Hodate, 1978; Akers *et al.*, 1981). A pesar de ello, la secreción de leche se

reduce aproximadamente a sólo un 45 % en los primeros 10 días de lactancia y la producción de leche se estabiliza a niveles normales conforme avanza la lactancia a pesar de la continua supresión de la liberación de PRL (Johke y Hodate, 1978).

2.2.3.- Control de la liberación de PRL durante la lactogénesis

En la rata, el principal mecanismo neuroendócrino implicado en el control de la descarga periparturienta de PRL es la supresión en la actividad de las neuronas TIDA (neuronas tuberoifundibulares dopaminérgicas) en el hipotálamo. Dicha supresión reduce la concentración de dopamina en la sangre portal-hipofisiaria y ello resulta en un incremento en la liberación de PRL. En muchos estados fisiológicos, la incrementada secreción de PRL y del lactógeno placentario retroalimentan para estimular la actividad de las neuronas TIDA y con ello la secreción de dopamina, la cual suprime a su vez la secreción de PRL. Sin embargo, durante el período periparturiente, las neuronas TIDA son menos sensibles a los efectos de la retroalimentación de la PRL y del lactógeno placentario. De este modo la poca actividad en las neuronas TIDA debido a la pobre retroacción, provoca que la PRL se mantenga en concentraciones elevadas durante el período periparturiente (Tucker, 2000; Nagy *et al.*, 1999). Además, se ha reportado en vacas que el incremento en la secreción de estrógenos acoplada a una relativa ausencia de progesterona induce una oleada en la secreción de PRL. Asimismo, junto con la reducida actividad de las neuronas TIDA, también existe un incremento concomitante en la secreción de la hormona liberadora de tirotrópina (TRH) en el hipotálamo mediobasal, hormona que también facilita la liberación de PRL (Neil *et al.*, 1994).

2.2.4.- Papel de la GH en la lactogénesis y el control de su liberación durante la lactogénesis

Actualmente, el papel de la GH sobre el inicio de la lactogénesis no está bien establecido. A pesar de ello, se ha reportado que en cabras hipofisectomizadas la combinación de GH, un corticoide y triiodotironina es moderadamente lactogénica (Cowie, 1969). En varias cepas de ratón, existe evidencia de que la GH incrementa la respuesta lactogénica del tejido mamario a la PRL y los corticoides. Además, se ha sugerido que la GH induce fácilmente la secreción de los constituyentes de la leche en varios sistemas de prueba. Sin embargo la GH bovina no es lactogénica ni en la cabra ni en cultivos mamaros bovinos (Tucker, 2000).

Existe un aumento en la secreción de la GH al momento del parto. Además, se presenta una disminución en la secreción de la somatostatina (neuropéptido que normalmente suprime la secreción de la GH) en el hipotálamo, sin existir un cambio en la hormona liberadora de la GH (GHRH; neuropéptido que normalmente incrementa la secreción de GH). Sin embargo, no está claro si el estrés del parto o algún otro factor ocasiona los cambios en la secreción de somatostatina y la GH durante la preñez tardía.

Una gran parte de los efectos de la GH sobre la función de la glándula mamaria es regulada por las proteínas ligadas a IGF (factores de crecimiento con actividad similar a insulina). Existen grandes cambios en estas proteínas en la glándula mamaria durante el período periparturiento, en especial una disminución en las concentraciones de IGF-I inmediatamente después del parto o durante la lactancia temprana (Vega *et al.*, 1991; Ronge y Blum, 1988). Esos cambios coinciden con una disminución en la proliferación de las células mamaras al inicio de la lactancia, dado que las proteínas IGF son potentes estimuladores de la proliferación celular mamaria (Akers, 1999). Sin embargo, no se conoce si estas proteínas

(IGF-I e IGF-II) y sus receptores están directamente implicadas en la lactogénesis, ni qué factores regulan su secreción durante esta fase.

2.2.5.- Papel de las hormonas esteroideas (estrógenos y progesterona) durante la lactogénesis

Una condición bien demostrada para que se inicie la lactogénesis en mamíferos es el decline en las concentraciones de progesterona y el incremento en las concentraciones de estradiol en sangre periférica justamente antes del parto. Esto es consistente con los efectos del bloqueo de la respuesta lactogénica debido a inyecciones de progesterona observada en ratas gestantes después de una lutectomía (remoción quirúrgica del cuerpo lúteo; Mepham, 1987). Así, en el caso de una lutectomía, la ausencia del cuerpo lúteo induce un prolongado incremento en la PRL circulante mayor a la observada después de una ovariectomía, posiblemente debido al efecto facilitatorio del estrógeno que es secretado por el tejido ovárico remanente (Busmann *et al.*, 1983). La inducción de la luteólisis debido a la administración de prostaglandina F2 α induce la secreción de PRL y una lactogénesis similar a la observada después de la lutectomía (Vermouth y Deis, 1972). Una respuesta similar se observa en humanos (Yue, *et al.*, 1974) y en cabras (Currie y Thorburn, 1973; McMahon *et al.*, 1979). Asimismo, esta hipótesis coincide con el hecho de que en la rata, los implantes de estradiol en la eminencia media o en la adenohipófisis inducen la liberación de elevadas cantidades de PRL, resultando en el desarrollo lobuloalveolar y con ello el inicio de la lactogénesis (Zambrano y Deis, 1970; Caron y Deis, 1998). Así, al parecer el estrógeno actúa a nivel hipotalámico o hipofisiario, ejerciendo una acción estimuladora sobre la síntesis y secreción de PRL, la cual a su vez induce el desarrollo mamario y la diferenciación celular.

En conjunto, las acciones facilitatorias del sistema neuroendócrino que favorecen la liberación de PRL y GH, aunado a los cambios en las concentraciones de hormonas esteroideas interactúan para dar el inicio de la secreción láctea en los mamíferos.

2.3.- Galactopoiésis

Se inicia con el parto y es el período en el cual la glándula mamaria sintetiza y evacua la leche producida. Generalmente, la actividad secretora de la glándula mamaria en esta fase es paralela a la demanda de leche de la camada. Por ello, la interacción funcional madre-neonato es de gran importancia, y se conoce que la estimulación táctil de los pezones por el amamantamiento u ordeña desencadena la descarga al torrente sanguíneo de un complejo de hormonas que participan en la secreción de leche de manera variable según la especie.

2.3.1.- Participación de la PRL durante la galactopoiésis

El papel de las hormonas pituitarias para asegurar el mantenimiento de la síntesis y la actividad secretora de la glándula mamaria ha sido demostrado experimentalmente. Así, en la cabra, cuando se suprimen las concentraciones de PRL por inyecciones diarias de bromocriptina (CB154) la lactancia establecida no es reducida. Por el contrario, la hipofisectomía induce una repentina disminución en la producción de leche tanto en la oveja como en la cabra. Sin embargo, la producción de leche puede ser completamente restablecida después de una combinación de inyecciones de PRL, GH un corticoide y tiroxina (Cowie, 1969; Larson y Smith, 1974; Peaker, 1977). Una vez restaurada la lactancia, la PRL no se requiere para mantener la secreción de leche en la cabra. Lo anterior ilustra el concepto de que la PRL juega un papel importante en la lactogénesis en rumiantes, pero un papel menos importante en mantener la lactancia (Tucker, 1994). En la coneja, la prolactina exógena es galactogénica (Cowie, 1969). Asimismo, en la rata la PRL exógena estimula la producción de

leche y además reduce el tiempo requerido para que la glándula mamaria vuelva a recargarse con leche después del amamantamiento (Kumaresan *et al.*, 1966; Grosvenor *et al.*, 1970).

Otros estudios sobre la secreción de PRL de la adenohipófisis también evidencian que la PRL juega un papel durante la lactancia establecida. Así se ha demostrado que el amamantamiento rápidamente agota las concentraciones de PRL en la adenohipófisis. Además, este agotamiento está asociado con el estímulo táctil del amamantamiento y no debido a la mera evacuación de la leche de la glándula. El amamantamiento incrementa marcadamente las concentraciones de PRL en suero (Amenomori *et al.*, 1970), pero las máximas concentraciones son alcanzadas hasta los 10 a 20 min después (Grosvenor y Mena, 1982). Esta discrepancia en la regulación entre el agudo agotamiento de la PRL en la hipófisis y su subsecuente aparición en sangre es asociada a una transformación de la molécula de la hormona en la adenohipófisis (Grosvenor *et al.*, 1984). La PRL transformada es menos soluble que la PRL pretransformada; además, la primera puede ser almacenada en la adenohipófisis, esperando ser liberada en la sangre o ser transformada nuevamente en una forma preliberable. Esta fase de agotamiento-transformación de la hormona está bajo el control de la dopamina, mientras que el TRH controla su liberación (Grosvenor y Mena, 1982; Grosvenor *et al.*, 1984). En la rata, las concentraciones de PRL en sangre permanecen elevadas mientras el estímulo del amamantamiento sea aplicado (Grosvenor y Whitworth, 1974), pero solo la PRL liberada inicialmente es requerida para la lactancia (Grosvenor *et al.*, 1975). De este modo, en la rata durante la lactancia temprana, la elevada frecuencia de succión realizada por las crías mantiene la secreción de PRL, con lo cual se estimula la producción de leche. Sin embargo, conforme avanza la lactancia esta frecuencia de succión disminuye, y por ello existe un decline en la liberación de PRL. Asimismo, se reduce la actividad secretora de la glándula mamaria (Grosvenor *et al.*, 1970).

2.3.2.- Liberación de PRL y de OT en respuesta a la estimulación exteroceptiva

Conjuntamente a la disminución en la frecuencia de succión durante los estados tardíos de la lactancia, en la rata se desarrolla un mecanismo alternativo para la liberación de PRL. Ese mecanismo es activado por los estímulos exteroceptivos provenientes de las crías, sin estimulación de los pezones. En efecto, en la rata lactante la PRL presente en la adenohipófisis es depletada con la sola exposición de las crías y sin contacto físico, después de un período de separación (Mena y Grosvenor, 1971). Además, estos autores determinaron que el olor de las crías era la señal que inducía esta liberación en las madres (Grosvenor *et al.*, 1990). En esta especie se ha sugerido que a medida que transcurre la lactancia dicha estimulación exteroceptiva incrementa su importancia, de manera que en las etapas finales de la lactancia, parece ser capaz de compensar los efectos de la reducción en la frecuencia de succión, y de adquirir un papel primordial para facilitar la secreción de PRL (Clapp *et al.*, 1987). Sin embargo, Grosvenor y Mena (1973) sugirieron que al final de la lactancia la estimulación exteroceptiva proveniente de las crías también es capaz de activar mecanismos adversos a la producción láctea, que inhiben el efecto de la prolactina, probablemente mediante algún mecanismo de acción simpática.

En vacas, la sola percepción de los estímulos exteroceptivos de sus becerros induce la liberación de PRL (Pérez *et al.*, 1985). Otros investigadores han determinado que la liberación de PRL al momento de la ordeña se reduce debido posiblemente a una liberación previa inducida por la sola percepción de los estímulos exteroceptivos de sus becerros (Gordon *et al.*, 1979; Akers y Lefcourt, 1984). Asimismo, Stevenson *et al.* (1994) demostraron que las vacas que son mastectomizadas (remoción quirúrgica de las glándulas mamarias) y que se les permite interactuar libremente con su becerro, presentan una elevación de PRL y OT con la sola percepción de la presencia de su cría después de un período de separación o de los

eventos normalmente asociados al amamantamiento. Estos autores sugirieron que la estimulación táctil de los pezones de la ubre no es un requisito para que el acto del amamantamiento induzca la liberación de estas hormonas. Peeters *et al.* (1973), obtuvieron resultados similares en relación con una liberación de OT en respuesta a una estimulación exteroceptiva por las crías. Efectivamente, en las vacas la percepción de las características visuales de su becerro, después de haber sido separado, indujo un fluido de leche en una teta canulada en esas hembras. En un estudio más reciente Lamb *et al.* (1999), mostraron que la producción de leche en la ordeña en las vacas productoras de carne que interaccionan de manera restringida con su cría (no permitiendo el amamantamiento) fue mayor (7.1 ± 0.6 kg) que las vacas cuyos becerros se les destetó precozmente (3.5 ± 0.6 kg). Lo anterior apoya lo reportado previamente por Pérez *et al.* (1985) quienes demostraron que la descarga de PRL es mayor en las vacas que interaccionan con sus crías que en aquellas que son solamente sometidas a la ordeña.

En ovejas lactantes también se ha encontrado que la liberación de OT puede ser inducida por estímulos exteroceptivos relacionados con el amamantamiento de las crías. Así, en esta especie se ha encontrado que la sola percepción de las señales olfatorias, visuales y auditivas provenientes de los corderos inducen la liberación de OT (Fuchs *et al.*, 1987; Barowicz y Ewy, 1974). También en las ovejas de razas lecheras, se ha demostrado que la salida de la leche durante la ordeña es facilitada si el cordero está presente (Labussière y Petrequin, 1969). En lo que respecta a las cabras, Hart (1974) sugirió que la PRL puede ser liberada en función de diferentes tipos de estímulos como la estimulación táctil de los pezones, los estímulos asociados con la rutina de la ordeña y estímulos metabólicos. Sin embargo, en la cabra McNeilly (1972) reportó que un porcentaje muy bajo de las hembras (2 de 12 que

amamantaron o ninguna en el caso de las ordeñadas) mostró una liberación condicionada de OT a los estímulos exteroceptivos de las crías o de la rutina de ordeña.

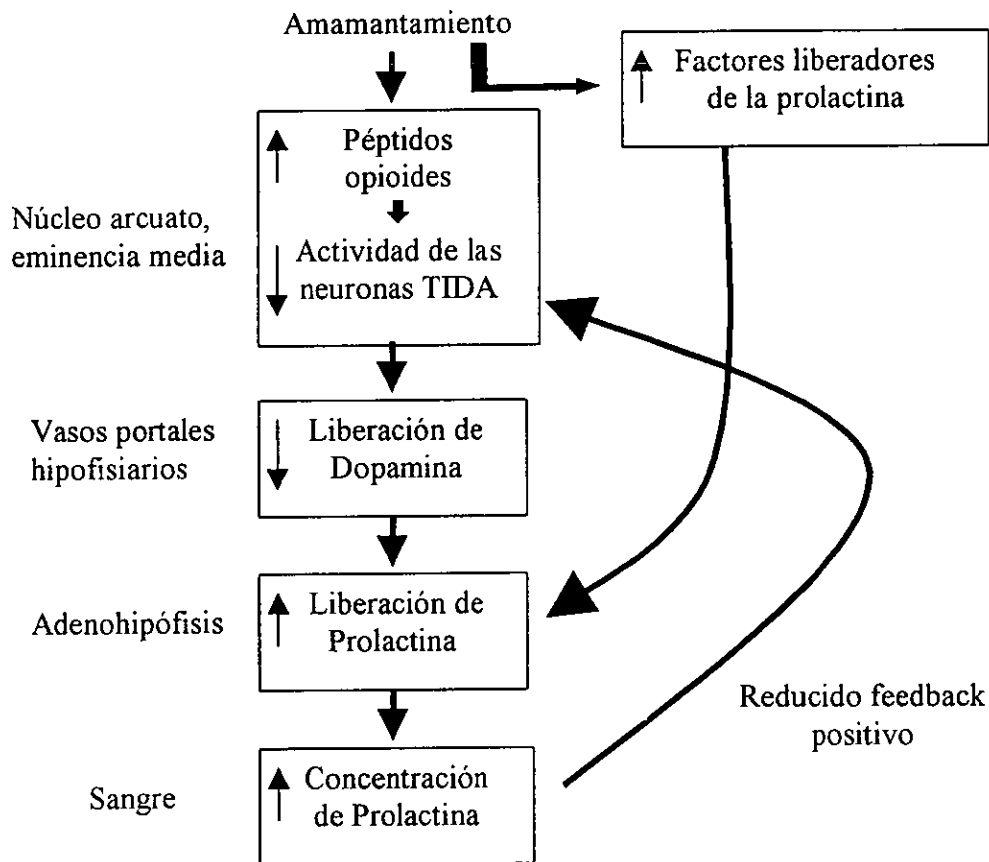


Figura 1. Cambios inducidos por el amamantamiento en los factores hipotalámicos que inhiben o estimulan la liberación de PRL de la adenohipófisis. Tomado de Tucker (2000).

2.3.3.- Control neuroendócrino de la liberación de PRL

El control en la liberación de PRL está integrado dentro del hipotálamo (Figura 1). Así, el amamantamiento incrementa temporalmente la secreción de endorfinas en el núcleo arcuato, las cuales suprimen la actividad de las neuronas TIDA, reduciendo así la liberación de dopamina de las terminales en la eminencia media a los vasos portales hipofisarios. Durante la lactancia temprana las concentraciones elevadas de PRL tienen una acción de retroalimentación positiva que incrementa la actividad en las neuronas TIDA. Sin embargo, a

mediados de la lactancia, la retroacción es muy disminuida, lo cual contribuye al mantenimiento de una elevada secreción de PRL. El estímulo del amamantamiento durante la lactancia también suprime la expresión de la tirosina hidroxilasa (enzima que participa catalizando la síntesis de dopamina) en el núcleo arcuato, lo cual probablemente contribuye a un reducido tono de dopamina durante la lactancia. A su vez, esta supresión resulta en un incremento en la liberación de PRL.

En el hipotálamo existen factores que también juegan un papel en la secreción de PRL al inducir su liberación durante el amamantamiento (ver Fig. 1). Así por ejemplo, la TRH, el péptido intestinal vasoactivo, un factor indefinido del lóbulo intermedio liberador de PRL, la OT, el neuropéptido Y, la neurotensina y la histamina facilitan la liberación de PRL inducida por el amamantamiento. Aunque el grado de participación de esos factores de liberación no está completamente comprendido, es muy probable que la supresión temporal de dopamina al inicio del amamantamiento incrementa la acción de uno o más de esos factores liberadores de PRL (Tucker, 2000).

2.3.4.- Participación de la GH (somatotropina) durante la galactopoiésis y el control neuroendócrino de su liberación

Como se mencionó anteriormente, la hipofisectomía inhibe la lactancia. Aunque este efecto se debe en gran parte a la ausencia de la PRL, es obvio que la GH pueda tener también algún papel. Efectivamente, el concepto general es que la GH sinergiza con la PRL, los corticoides adrenales y las hormonas tiroideas para estimular la lactancia en animales hipofisectomizados. La administración de GH ovina a ratas lactantes no tiene efecto sobre la intensidad de secreción de leche, ni previene la disminución normal en su producción debida al avance de la lactancia (Thatcher y Tucker, 1970, Meites, 1957). Asimismo, la administración de antisuero contra GH en la rata no tiene un efecto sobre el desarrollo de la lactancia temprana, pero si el

antisuero se combina con bromocriptina la lactancia declina más rápido que con la sola administración de bromocriptina (Madon *et al.*, 1986). En contraste a los datos obtenidos en ratas, la GH exógena es galactopoiética en rumiantes. En efecto, en estudios de corto plazo, las inyecciones de GH en vacas de raza Holstein de alta o media producción durante la lactancia media o tardía resulta en un incremento constante de 2 a 5 kg de leche / día (Bauman y Vernon, 1993; Chilliard, 1988; Peel y Bauman, 1987). La variación en la respuesta es debida a la duración del tratamiento, la dosis, el estado de la lactancia, las condiciones de manejo y otros factores no identificados. En vacas, ovejas y cabras, la liberación de somatotropina de la adenohipófisis debida a repetidas inyecciones de somatocrininas (GHRH o potentes análogos), resulta en un incremento en la producción de leche y en los porcentajes de sus componentes. En estudios de largo plazo, el tratamiento con GH a vacas y ovejas por más de cien días induce un incremento en la producción de leche similar al tratamiento a corto plazo, especialmente durante estados tardíos de la lactancia. Los incrementos en la producción de leche en vacas Holstein altamente productoras (> 25 kg/día) llegan a entre 8 y un 40 % de incremento en la producción diaria promedio (Bachman *et al.*, 1999).

El patrón de respuesta en ganado bovino es el siguiente: la producción de leche se incrementa en los primeros días de la administración de la GH y alcanza su máximo durante la primera semana del tratamiento. Si el tratamiento es suspendido, la producción de leche retorna gradualmente a los niveles pretratamiento. Sin embargo, cuando el tratamiento continúa, la elevada producción de leche se mantiene (Bauman *et al.*, 1985). Así, la GH bovina resulta en un gran pico en la producción de leche y una persistencia incrementada de su efecto durante el ciclo de la lactancia (Etherton y Bauman, 1998). La GH puede ejercer su efecto en la glándula mamaria directamente sobre las células epiteliales mamarias, aunque se desconoce si existe un receptor en la glándula mamaria. También, existe evidencia de que el incremento en la

secreción de IGF -1 del hígado, o localmente en la glándula mamaria, regula los efectos galactopoiéticos de la GH en ratas.

Aunque durante la lactancia las concentraciones séricas basales de la GH no difieren a la de los animales no lactantes, el amamantamiento ocasiona una liberación transitoria en los niveles de la GH. El amamantamiento activa los opioides y los mecanismos de receptor α_2 -adrenérgico en el núcleo arcuato para así incrementar la secreción de GHRH (hormona liberadora de la GH) y subsecuentemente la GH (Tucker, 2000). En vacas, se piensa que la GH regula la partición de nutrientes hacia la glándula mamaria durante la lactancia. La mayor parte de la acción de la GH es realizada fuera de las glándulas mamarias, especialmente a nivel de los adipocitos y del hígado. En la cabra, la ordeña puede o no causar una aguda liberación de GH en la sangre (Hart y Linzell, 1977). Como se mencionó anteriormente, la GHRH del hipotálamo esta implicada en el mecanismo por el cual la secreción de GH y la síntesis de leche se mantienen durante la lactancia. Efectivamente, en vacas una administración sostenida de GHRH mantiene elevada la secreción de GH, la cual a su vez, incrementa la producción de leche en un promedio de 8 kg por vaca por día (Dahl *et al.*, 1990; Tucker 2000). La activación de los receptores α_2 -adrenérgicos estimula la liberación de GHRH e incrementa las concentraciones de GH en la sangre; además, la dopamina, y el neuropéptido Y se encuentran localizados en las neuronas GHRH. Sin embargo, se desconoce si esos mecanismos son activados durante la lactancia. Por último, la activación de los receptores D_1 de dopamina incrementa la secreción de somatostatina, la cual suprime la secreción de la GH. Sin embargo, el papel de la somatostatina en la regulación de la secreción GH durante la lactancia no ha sido estudiado.

2.4.- Evacuación láctea

La evacuación láctea es facilitada por la contracción de las células mioepiteliales que rodean a cada alvéolo y que se encuentran de manera longitudinal en las paredes de los ductos galactóforos. El proceso de evacuación resulta en la rápida transferencia de la leche que esta contenida en los espacios lobuloalveolares a los grandes conductos. Lo anterior es fácil de detectar, ya que se incrementa la turgencia de la glándula, o por medios más cuantitativos, con la medición de la presión intramamaria registrada mediante un catéter insertado en el canal de la teta. Una eficiente evacuación de la leche de los grandes ductos requiere de un esfuerzo por parte de la cría. La erección de la teta ayuda a su retención en la boca. El proceso es semejante a cuando se ordeña un animal con la mano. Así, la leche contenida en el sinus de la teta es expelida a través del orificio seguido de la compresión de la base de la teta entre la encía superior y la lengua apoyándose en la encía inferior; cuando esta compresión es liberada temporalmente, fluye más leche de la glándula al sinus de la teta debido a la eyección inducida por la presión y al vacío ejercido por la succión.

Las variaciones en la frecuencia de amamantamiento entre especies son grandes, y puede ocurrir desde una vez cada 48 horas en la musaraña (Martin, 1966), una vez al día en la coneja (Zarrow *et al.*, 1965), a una vez cada 2 o 3 horas en la rata (Lincoln *et al.*, 1973) cada hora en la cerda, oveja y cabra (Newberry y Woodgush, 1985; Gordon y Siegmann, 1991; Delgadillo *et al.*, 1997) e incluso la succión puede mantenerse permanentemente por algunas semanas en los marsupiales (Wakerley, 1999).

2.4.1.- Inervación de la glándula mamaria

En ruminantes, las paredes de las tetas están altamente inervadas, por otro lado, el parénquima de la glándula mamaria esta menos inervado que la región periférica; sin embargo, en las

glándulas mamarias de la cabra y la vaca se han encontrado quimiorreceptores (Gratchev, 1949; Janovsky y Bilek, 1961).

En la cabra, las ramificaciones de los nervios lumbares L1 y L2 se extienden en la región anterolateral de la ubre en un 48 y 60 % de los animales respectivamente, mientras que en la glándula mamaria de la oveja, no ha sido posible demostrar esa proyección (Linzell, 1955).

Sin embargo, está claramente establecido que en ambas especies:

a) L3 y L4 participan en la formación del nervio inguinal; un nervio que ramifica hacia las paredes laterales de la glándula, las cisternas, las tetas y el parénquima profundo. En la cabra, solo el L2 está parcialmente asociado con el "tronco" nervioso, y solo en la oveja ciertas fibras del nervio rotular (perteneciente a L5) se extienden de la superficie lisa del muslo al borde lateral de la ubre.

b) Las raíces de los nervios sacros S3 y S4 son el origen del nervio perineal y este inerva la superficie posterior de la glándula mamaria; sólo en la oveja algunas pocas fibras de S2 son localizadas en este nervio.

En la oveja, la hemisección del funículo ventrolateral al nivel del décimo segmento torácico de la espina dorsal bloquea la actividad eléctrica provocada en el tálamo (VPL) mediante la estimulación del nervio contralateral inguinal (Richard, 1969). Así el tracto espino-reticulo-hipotalámico, el cual se encuentra situado ventrolateralmente, también puede ser un gran candidato para transmitir la información de la glándula mamaria al hipotálamo. Sin embargo, en ovejas también el tracto espinocervicotalámico tiene un papel importante (Richard, 1969). Este no cruza la médula espinal, sino pasa progresivamente de la posición dorsolateral en las regiones lumbares y torácicas a la posición ventral en la región cervical. Su sección a nivel de la décima vértebra torácica inhibe el segundo pico de eyección de leche observado durante la ordeña el cual refleja la liberación de OT (Labussière *et al.*, 1969). Es posible que mediante

una vía colateral, ésta pueda facilitar el paso de los impulsos espinoreticulo-hipotalámicos en la formación reticular hacia las células secretoras de OT.

En la rata, el estímulo aplicado en las tetas no cruza la médula espinal (Fukuoka *et al.*, 1984), más bien se siguen preferencialmente por el tracto espinocervicotalámico, el cual en estas especies está localizado lateralmente (no como en la oveja en la cual se localiza dorsal o ventralmente). Las lesiones en este tracto bloquean el reflejo de evacuación de la leche, mientras su estimulación induce un incremento en la presión intramamaria idéntica a la registrada durante el amamantamiento (Poulain y Dyer, 1984). Resultados similares se han reportado en la coneja (Mena y Beyer, 1968). Parece estar bien establecido que las fibras implicadas en la activación del reflejo neuroendócrino de expulsión de la leche no atraviesan el sistema del lemnisco más allá del mesencéfalo, y a este nivel existen proyecciones dentro de las zonas tegmentolaterales cercanas al colículo inferior (núcleo externo). La estimulación de éstas provoca la expulsión de la leche (Tindal *et al.*, 1967; 1969), mientras que su destrucción bloquea la expulsión de la leche (Dubois-Dauphin *et al.*, 1985; Juss y Wakerley, 1981). Otras regiones mesencefálicas también parecen estar implicadas de manera estrecha: las lesiones en el tegmentum ventral (Juss y Wakerley, 1981) y en su porción caudal perturban la periodicidad del reflejo de eyección de leche en la rata. Finalmente, en la oveja, existen zonas de posible actividad inducida en el tallo posterior pituitario que son mantenidas en la entera formación reticular (Richard, 1969). Esta estructura representa el primer sistema de análisis e integración para los impulsos ascendentes, y su completa destrucción previene que los impulsos originados en la glándula mamaria alcancen el hipotálamo (Richard, 1969).

2.4.2.- Liberación de oxitocina (OT) y el reflejo de eyección de la leche.

Debido a la acción de la oxitocina, la leche fluye hacia fuera de los alvéolos mediante los ductos galactóforos, los cuales son dilatados cuando las células mioepiteliales que los rodean

se contraen. La leche puede alcanzar ya sea las cisternas (cuando están presentes) o bien directamente la teta.

Las vías nerviosas aferentes hacen sinapsis con el hipotálamo, particularmente con neuronas neurosecretoras magnocelulares del núcleo paraventricular del hipotálamo, las cuales sintetizan las hormonas peptídicas oxitocina y vasopresina. Durante el amamantamiento la activación de las vías neurales del núcleo cervical lateral, junto con la activación de las vías noradrenérgicas, ocasionan la liberación de OT de los núcleos paraventricular (PVN) y supraóptico (SON). Es en las células de estos núcleos en donde la OT es sintetizada junto con su péptido asociado neurofisisina. La neurofisisina esta implicada en el transporte de la OT a la neurohipófisis (Tucker, 2000). Una característica de las neuronas oxitocinérgicas es una intermitente actividad en su tasa de descarga (incremento explosivo) llamada actividad “*bursting*” o “*burst*” y que se observa antes de la liberación de OT en respuesta al amamantamiento (Crowley y Armstrong, 1992). Cada burst de actividad es un evento coordinado entre todas las neuronas y esta asociado con un subsecuente pulso de liberación de OT en la sangre. El bursting es un fenómeno que favorece que la OT alcance la glándula mamaria en una elevada concentración. Lo anterior asegura que las contracciones de las células mioepiteliales ocurra sincronizadamente en todas partes de las glándulas mamarias.

Los patrones de evacuación de la leche pueden ser estudiados directamente por el registro de la presión intramamaria mediante un catéter insertado en un ducto lactífero. Estos registros han revelado que la eyección de la leche ocurre en una o más respuestas discretas de presión intramamaria, las cuales normalmente duran entre 0.5 y 2 min. Cada respuesta es caracterizada por un abrupto incremento en la presión (10-20 mm Hg) seguido por una fase de decline (Wakerley, 1999). Este patrón básico parece común en todas las especies, aunque existe considerable variación en el número y frecuencia de las respuestas que pueden ser observadas

durante un episodio de amamantamiento. Por ejemplo, la cerda y la coneja muestran una sola respuesta, mientras que la rata muestra una completa serie de eyecciones espaciadas regularmente (Wakerley *et al.*, 1994).

La acetilcolina induce la liberación de OT y la presencia de receptores colinérgicos en el núcleo supraóptico sugiere que las neuronas oxitocinérgicas pueden recibir entrada colinérgica y participar en la regulación de la liberación de OT inducida por el amamantamiento. El neurotransmisor norepinefrina, actúa vía receptores α_1 -adrenérgicos en el núcleo supraóptico y paraventricular, dicho neurotransmisor también induce la liberación de OT. El glutamato y la dopamina son otros neurotransmisores que pueden estimular la liberación de OT (Labussière, 1999; Tucker, 2000). Pero la oxitocina por sí misma puede incrementar la actividad del *bursting* en el PVN (Inenaga y Yamashita, 1986; Moos *et al.*, 1984) y en el SON. Existen receptores a OT en esos núcleos y se postula que esa acción local puede facilitar la liberación de OT. También en ovejas, existen evidencias de que las concentraciones de OT se incrementan en el líquido cefalorraquídeo durante el trabajo del parto, el parto y durante el amamantamiento (Kendrick *et al.*, 1986). Además, la OT también se incrementa en diferentes partes del cerebro como la sustancia nigra, el bulbo olfatorio (Kendrick *et al.*, 1988), el área medial preóptica y el núcleo vago de la estría terminal durante el amamantamiento (Kendrick *et al.*, 1992c). La liberación de OT de las terminales de la neurohipófisis incluye la exocitosis de los gránulos de OT en respuesta a un incremento en calcio inducido por las señales neurales ocasionadas por el amamantamiento u ordeña. Aparte del amamantamiento, los infantes pueden proporcionar otros estímulos tales como el topeteo a la ubre (como los rumiantes) y como se mencionó anteriormente una variedad de estímulos exteroceptivos tales como las

vocalizaciones, aspectos visuales y el olor de las crías que inducen la liberación de OT (Ver párrafo 2.3.2).

Anteriormente se consideraba que la vida media de la OT era corta, debido a que ésta no duraba más de 2 min en la rata (Ginsburg y Smith, 1959) ó 1 min en la oveja y la mujer (Fitzpatrick, 1961). Sin embargo, lo anterior ocurre en especies que producen la oxitocinasa. Estudios más recientes han distinguido entre vida media rápida (1.94 min en la cabra y 3.87 min en la vaca) que representa la difusión de la hormona fuera de los vasos y la vida media lenta (22.3 min en la cabra y 25.5 min en la vaca) que resulta de su catabolismo y excreción (Homeida y Cooke, 1984). La duración del tránsito de la hormona desde la neurohipófisis a la glándula mamaria es de 24.3 s en la cabra (Martinet y Denamur, 1960) y de 16.9 s en la oveja (Labussiére y Durand, 1970).

En el ganado bovino lechero, las concentraciones de OT en la sangre permanecen elevadas durante la ordeña mecánica, un procedimiento que normalmente dura de 4 a 8 min. La ordeña también reduce el tono en la glándula mamaria debido a una inhibición local en la secreción de epinefrina de los nervios simpáticos en la glándula mamaria. Una reducida actividad en las neuronas simpáticas es asociada a una incrementada tasa de salida de leche. En la rata existe un retardo de 10-15 min en la eyección de la leche en respuesta al amamantamiento. Este retardo esta asociado con la liberación de epinefrina. Sin embargo, a medida que continua el amamantamiento, la liberación de epinefrina se agota, lo cual facilita la acción de la OT en las células mioepiteliales (Tucker, 2000). Aunque el amamantamiento pueda ser continuo, la liberación de OT de la neurohipófisis es intermitente. En cerdas, las cuales amamantan aproximadamente una vez cada hora, cada episodio de eyección de leche dura solo aproximadamente 20 s., lo cual explica la importancia de que los lechones estén amamantándose activamente de la teta al momento en que ocurren las eyecciones.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la mayoría de los rumiantes, a excepción de las cabras, las características de la conducta de amamantamiento han sido estudiadas ampliamente. En la especie caprina, los estudios de relación espacial entre la madre y su cría durante la primer semana de lactancia sugieren que la actividad de amamantamiento sea baja debido a la conducta escondediza de la cría durante ese tiempo. Sin embargo, en esta especie no se conoce el ritmo de amamantamiento durante ese período inicial. Además, no se puede excluir que, bajo condiciones de manejo intensivo, en donde en ocasiones existe poco espacio para alojar a los animales, la frecuencia inicial de amamantamiento sea modificada debido a la imposibilidad de los cabritos para esconderse. Por consiguiente, en este trabajo de tesis se propone estudiar la conducta de amamantamiento desde las primeras 6 horas postparto y durante la primer semana de lactancia en animales mantenidos en confinamiento. Asimismo, se propone investigar el efecto de reducir o suprimir totalmente (sometiendo los animales a una ordeña diaria) el período normal de contacto diario madre-cría, sobre aspectos de producción de leche y crecimiento de las crías. También, se plantea que tanto en cabras como en ovejas, el sentido del olfato juega un papel importante sobre la actividad espontánea del amamantamiento y sobre la producción de leche durante la lactancia, por lo que se estudiará la influencia de suprimir ese sentido sobre esas variables.

En relación con la fisiología de la lactancia, en esta especie no se ha estudiado hasta hoy el efecto de reducir el contacto madre-cría diario sobre la liberación de hormonas galactopoiéticas (PRL, GH) al momento de la estimulación de la ubre. Asimismo, no se ha

estudiado si la selectividad maternal¹ ejerce alguna influencia sobre la respuesta hormonal al momento del amamantamiento, lo cual parece ser el caso en otros rumiantes. Por lo tanto se propone estudiar los perfiles de liberación al momento de la estimulación de la ubre en cabras sometidas a diferentes tiempos de contacto madre-cría diario, así como los perfiles obtenidos durante el amamantamiento de la (s) cría (s) propia (s) o durante el amamantamiento a crías extrañas. Para lo anterior, se comparará la respuesta obtenida en animales intactos que muestran una conducta selectiva y en animales anósmicos que no son selectivos.

Por último se propone investigar el efecto de bloquear el establecimiento de la selectividad maternal mediante una anosmia preparto, sobre la duración del período de inactividad sexual postparto (anestro postparto) en cabras.

¹ En este estudio el término selectividad maternal o conducta selectiva, se refiere al hecho de que la madre acepta amamantar exclusivamente a su propia camada y rechaza cualquier otra cría ajena.

IV. OBJETIVOS DEL PROYECTO

4.1.- Objetivo general.

Caracterizar la conducta de amamantamiento en la cabra y estudiar en cabras y ovejas las relaciones entre dicha conducta, el papel de la olfacción materna y aspectos de la fisiología maternal durante la lactancia como lo son la respuesta hormonal a la succión, la producción de leche y la duración del anestro postparto.

4.2.- Objetivos específicos.

4.2.1.- Primera fase experimental.

- Caracterizar los ritmos naturales del amamantamiento desde el parto hasta los dos primeros meses de lactancia en la cabra.
- Determinar en cabras y en ovejas, si la deficiencia en la percepción de las señales olfatorias de las crías debido a una anosmia influye sobre la actividad espontánea del amamantamiento, la producción de leche y el crecimiento de las crías durante la lactancia.
- Evaluar en la cabra, el efecto de restringir el ritmo normal de amamantamiento, sobre la producción láctea de las hembras y el crecimiento de los cabritos.

4.2.2.- Segunda fase experimental.

- Determinar el perfil de la liberación de las hormonas galactopoiéticas (PRL, GH) al momento del amamantamiento u ordeña y en función con el grado de interacción madre-cría en la cabra.

-Determinar el perfil de liberación de las hormonas galactopoiéticas PRL y OT en función de la selectividad maternal.

-Determinar el efecto de la ausencia de la selectividad maternal, mediante una anosmia preparto sobre la duración del período de inactividad sexual postparto en la cabra.

V. HIPOTESIS

Para poder investigar y probar las siguientes hipótesis derivadas del planteamiento del problema, el proyecto de investigación se dividió en dos fases experimentales, las cuales fueron desarrolladas en 6 estudios. Las fases experimentales y sus postulados son las siguientes:

3.1.- Fase I

Se postula que la frecuencia de amamantamiento espontánea en la cabra al inicio de la lactancia es menor a la registrada en ovejas, debido a la fase “escondediza” que muestra la cría y que dicha frecuencia se incrementa significativamente a la primer semana de lactancia (Estudio 1).

Se postula que tanto en cabras como en ovejas, la ausencia de la percepción de señales olfatorias provenientes de las crías en la madre perturba la actividad espontánea de amamantamiento, la producción de leche y el crecimiento de las crías durante la lactancia en la cabra (Estudio 2).

También se propone que imponiendo una restricción en el período normal de interacción madre-cría diario en las cabras, permitirá obtener una cantidad de leche disponible desde los inicios de la lactancia, sin afectar de manera drástica el crecimiento de las crías (Estudio3).

3.2.- Fase II

En esta parte se postula que la restricción o el total bloqueo en el período diario de contacto madre-cría inducirá bajos niveles de PRL y GH al momento de la estimulación de la ubre ya sea por el amamantamiento o la ordeña (Estudio 4).

También se propone que la liberación de la PRL y de la OT al momento del amamantamiento es modulada por la selectividad maternal. Por lo que se postula que en las cabras intactas, las cuales muestran una conducta selectiva, la intensidad de respuesta de liberación de estas dos hormonas es menor cuando se le fuerza amamantar a una (s) cría (s) ajena (s). En cambio, en las cabras anósmicas, las cuales normalmente no son selectivas, la intensidad de la liberación de estas hormonas será similar independientemente de la identidad de la cría (Estudio 5).

Por último, en esta fase experimental se postula que el bloqueo en la formación de un vínculo selectivo entre la madre y su camada debido a una anosmia, inducirá un temprano reinicio de la actividad sexual después del parto en comparación con las hembras intactas/selectivas (Estudio 6).

VI. MATERIALES Y METODOS GENERALES

6.1.- *Sincronización de la reproducción (estudios 2, 4 y 6).*

El objetivo de esta práctica de manejo en las cabras, es para controlar las fechas de partos y por ello, que los nacimientos ocurran concentrados en etapas determinadas para poder obtener grupos homogéneos. La reproducción de las hembras fue sincronizada en el mes de abril, para así tener los partos durante el período natural de reproducción (octubre) y de esta manera, poder observar los efectos de los tratamientos sobre la actividad sexual (McNeilly, 1994). En este caso, la sincronización se realizó como lo describe Corteel *et al.* (1988): La última semana del mes de abril se les aplicó a las cabras una esponja intravaginal que contenía acetato de flurogestona (45 mg; Chrono-gest®). Esta esponja permaneció por 19 ó 21 días completos. En el caso de 19 días, 48 h antes de retirarse las esponjas (día 17) se les aplicó a temprana hora del día (antes de las 10:00 hrs) 300 UI de hormona gonadotrópica de suero de yegua preñada (eCG; Foligón®) y 0.1 mg de Cloprostenol. En el caso de las hembras que duraron con la esponja puesta por 21 días, ese mismo día se aplicó 300 UI de PMSG. Después de esto, se introdujeron los machos para que fertilizaran a las hembras, tan pronto éstas presentaron celo, y se les permitió un primer servicio (monta). Un segundo servicio ocurría a 12 horas después del primero (si la cabra lo aceptaba, y un tercer servicio 12 horas después del segundo). Los machos, fueron preparados nutricionalmente para el empadre (tiempo que duraron apareándose con las cabras) desde dos meses antes de iniciar los apareamientos, mediante una alimentación correcta y cuidando su estado sanitario (NRC, 1981).

6.2.- *Actividades realizadas al parto*

En los dos experimentos, se realizó el siguiente manejo: la mayoría de los partos ocurrieron de manera normal, únicamente se intervino cuando la hembra presentaba dificultad para parir. Al

momento del parto o inmediatamente después de éste, la madre y su (s) cría (s) fueron colocadas en un corral individual durante las primeras 4 horas postparto. Después de transcurrido ese tiempo a las crías se les cortó el cordón umbilical y se desinfectó esa área mediante la aplicación de azul de metileno. Asimismo, en este tiempo las crías fueron identificadas mediante la colocación de un arete de plástico y se registró su peso.

6.3.- Técnica para realizar la anosmia mediante la irrigación intranasal de sulfato de zinc al 1.5 % ($ZnSO_4$ al 1.5 %) según técnica descrita por Romeyer et al. (1994a).

La primera aplicación fue realizada aproximadamente un mes antes de la fecha de parto esperada y el procedimiento se repitió una semana después. Veinticuatro horas antes de cada aplicación, las cabras fueron puestas en ayuno y sin agua con el fin de evitar problemas como vómito y broncoaspiración al momento de la intervención. Los animales fueron anestesiados con Tiopental Sódico a una dosis de 20 mg/kg de peso del animal. Una vez anestesiada la hembra fue intubada con una sonda endotraqueal con vejiga inflable, colocada con la ayuda de un mandril. Se verificó que efectivamente se encontrara en la tráquea para evitar alguna broncoaspiración y después se infló la vejiga. Posteriormente, la cabra se pasó a una mesa en donde se le colocó en una posición decúbito dorsal, procediendo inmediatamente a realizar la irrigación. Para ello, se le introdujo un catéter (que estaba conectado por un extremo a una jeringa de 60 ml que contenía la solución) en uno de los orificios nasales hasta entrar una longitud considerada y se comenzó a administrar la solución hasta que esta saliera por el otro orificio nasal. Posteriormente se irrigó el otro orificio nasal de modo similar. En total, se administró entre 100 y 150 ml de la solución. Una vez llenas las cavidades nasales, se sacudió la cabeza del animal tapando ambos orificios nasales para evitar que la solución se saliera y se llenaba nuevamente para asegurarse de que cada cavidad nasal estuviera repleta de la solución. El animal permaneció con la solución durante tres minutos y posteriormente se le sacudió

nuevamente la cabeza para sacar el líquido administrado, evitando dejar líquido en las cavidades nasales. Finalmente la cabra se colocó a un corral en donde se recuperaba de la anestesia, y se le retiraba la sonda endotraqueal.

6.4.- Prueba de discriminación olfatoria

La verificación de la anosmia se realizó a las 24 h postparto, y a los 30 y 50 días postparto. Para realizar la prueba se procuró que los animales estuvieran en ayuno el día de la prueba. Cada madre se alojó en un corral de 2 x 2 m, en el cual la cabra fue expuesta a 2 cubetas conteniendo alimento concentrado, pero a una de ellas se le untó heces de perro frescas en la pared interior (olor que es muy repulsivo en animales intactos; Poindron, 1974) y se cronometró el tiempo que duró consumiendo en cada cubeta durante los 2 min que duraba la prueba. Un animal que consumía por más de 10 segundos el alimento contenido en la cubeta con excremento se consideraba anósmico.

6.5.- Prueba de selectividad

Se realizó una prueba de selectividad maternal a 24 horas postparto. Esta prueba se realizó con la finalidad de evidenciar si las madres poseen o no una conducta selectiva hacia su (s) cría (s). La selectividad maternal o conducta selectiva, se definió como el hecho de que la madre acepta amamantar exclusivamente a su propia camada y rechaza cualquier cría ajena que intente amamantarse. Se midió la conducta de la madre hacia su propia cría y hacia una cría extraña en dos períodos de observación de 2 minutos de duración. En la prueba se registraron las siguientes conductas de la madre:

- 1.- Frecuencia de emisión de balidos bajos (número de vocalizaciones emitidas por el animal con la boca cerrada) y de balidos altos (número de vocalizaciones realizadas con la boca abierta).

2.- Número de aceptaciones a la ubre (cada vez que la madre permitió al cordero acercarse a la ubre sin signos de rechazo).

3.- Tiempo total de amamantamiento (en segundos).

4.- Número de rechazos a la ubre.

5.- Número de golpes y amenazas con la cabeza (agresiones realizadas mediante el movimiento brusco de la cabeza de la madre hacia una cría con golpe o sin contacto).

Los datos anteriores fueron capturados en el paquete estadístico SYSTAT (SPSS, Chicago ILL) y analizados mediante procedimientos no paramétricos.

6.6.- Nota ética (estudios 2, 5 y 6)

La anosmia no alteró el peso corporal de las madres durante los dos últimos meses de preñez, ni modificó de manera obvia su conducta de alimentación. Asimismo, no se ha reportado que la anosmia induzca abortos. Además no se detectaron diferencias en los pesos al nacimiento de las crías entre grupos de animales intactos y anósmicos. Ninguna de las pruebas de selectividad produjo trastornos observables en las madres y sus crías, aparte de la ausencia de selectividad. Asimismo, como se observará en los resultados, esto no causó perturbaciones observables en las crías. Tampoco existieron consecuencias detrimenales sobre la tasa de crecimiento de las crías hasta el destete.

6.7.- Análisis estadístico de los datos

Los datos obtenidos en las variables de ambas fases experimentales, se sometieron a una prueba de Lilliefors para analizar su normalidad y su transformación en caso de que fuera necesario. Cuando los datos no pudieron ser normalizados, se utilizaron pruebas no paramétricas para su análisis (Kruskal - Wallis y Mann-Whitney para datos independientes, y Friedman y Wilcoxon para datos dependientes). Los datos de la conducta de amamantamiento del experimento en ovejas fueron analizados mediante procedimientos estadísticos no

paramétricos y fueron expresados en medianas y rangos intercuartiles (IQR). Las variables de los ritmos del amamantamiento de las cabras del estudio 1 y 2 fueron sometidas a un análisis de varianza (ANOVA) de medidas repetidas con dos factores (tiempo y tipo de cría, y tiempo y grupo en el estudio 1 y 2 respectivamente). La producción total de leche disponible de las hembras de los cuatro grupos experimentales en el estudio 3 se comparó mediante un ANOVA con un factor (grupo). Los pesos de las crías registrados semanalmente, fueron analizados mediante un ANOVA de medidas repetidas con dos factores (tiempo-grupo). En lo referente a las variables de la actividad sexual en la segunda fase experimental, las fechas promedio de inicio de la actividad sexual y la duración promedio de los períodos de anestro postparto se compararon mediante una prueba de *U* de Mann-Whitney. Asimismo, en ambas fases experimentales para determinar todas las posibles relaciones entre las distintas variables, se utilizó la prueba de correlación de Pearson o bien el coeficiente de correlación de Spearman con la corrección de Bonferroni en datos no normales. Todos estos análisis se realizaron mediante el apoyo del programa estadístico SYSTAT 5.03 (Evanston ILL, USA, 1992).

PRIMERA FASE EXPERIMENTAL

**CONDUCTA DE AMAMANTAMIENTO DE LA CABRA DURANTE LA
LACTANCIA TEMPRANA**

**EFFECTOS DE LA ANOSMIA SOBRE LA ACTIVIDAD ESPONTANEA DE
AMAMANTAMIENTO Y LA PRODUCCION DE LECHE**

**EFFECTO DE RESTRIGIR EL PERIODO NATURAL DE CONTACTO MADRE-CRIA
SOBRE ASPECTOS ZOOTECNICOS**

Estudio 1

Análisis descriptivo de la conducta de amamantamiento en la cabra desde el parto y hasta los dos primeros meses de lactancia

Introducción

En los ungulados, las primeras horas postparto representan una etapa de intensa interacción entre la madre y su camada, que culmina permitiendo el acceso de la ubre a esta última, y con el establecimiento de un ritmo del amamantamiento cuya frecuencia varía entre especies. Inmediatamente después del parto, todas las madres en los animales ungulados con excepción de los camellos y cerdos, lamen vigorosamente a su (s) cría (s) (Collias, 1956; Shackleton y Shank, 1984). En ocasiones, se puede observar en los ovinos que la madre come parte de las membranas fetales que están adheridas a la cría (Bareham, 1976). Los lamidos de la cría por la oveja pueden eliminar una gran parte de los líquidos presentes en la piel de las crías al nacer, y de esta manera reducir en el cordero la pérdida de calor necesaria para secarse cuando la temperatura ambiental está baja (Alexander, 1988). Asimismo, durante el período postparto inmediato, la hembra emite vocalizaciones maternas típicas que son características de un estado de motivación maternal. Todas estas estimulaciones táctiles, acústicas y visuales incitan al crío para levantarse (Vince, 1993). Durante la aproximación inicial, la oveja tiende a mantener a la cría delante de su cabeza para facilitar el lamido, pero rápidamente, la madre permitirá a la cría moverse hacia la ubre. Lo anterior permite que la región anal de la cría quede cerca de la cabeza de la oveja y que a menudo frote y olfatee esa región (Hafez, 1989). Tanto la orientación materna como los lamidos parecen facilitar que la cría encuentre las tetas por vez primera, pero ninguno es esencial (Alexander y Williams, 1964). Al parecer las crías

encuentran las tetas por ensayo y error. Por ejemplo, en los cabritos el hallazgo de las tetas de la madre, se produce con igual éxito ya sea si la ubre se encuentra en su posición normal o si ha sido implantada en el cuello (Stephens y Linzell, 1974). El primer amamantamiento normalmente toma lugar durante la primera hora después del nacimiento.

Las principales variables que caracterizan la conducta del amamantamiento en estas especies son: la frecuencia del amamantamiento (número de amamantamientos registrados en un período de tiempo determinado), el tiempo promedio por amamantamiento (la duración promedio de un amamantamiento durante un período de registro) y el tiempo total del amamantamiento (duración total de amamantamiento en un período de tiempo determinado).

Actualmente, la conducta de amamantamiento de los corderos durante el primer día de vida está bien documentada. Al respecto, Bareham (1976) determinó que la frecuencia del amamantamiento de los corderos Clun Forest durante la primera hora después del nacimiento es elevada (14 veces/ h). Posteriormente, esta frecuencia disminuye a las 24 h postparto hacia 3 veces/ h. Sin embargo, en la especie caprina no existen hasta ahora, estudios que describan estas características durante los inicios de la lactancia. En la especie ovina, algunos estudios indican que las hembras, muestran un elevado ritmo del amamantamiento de su (s) cría (s) durante las primeras semanas postparto y que después, estos ritmos disminuyen con el transcurso de la lactancia (Ewbank, 1967; Fletcher, 1971; Gordon y Siegmann, 1991). Por ejemplo, el estudio de Gordon y Siegmann (1991) demuestra que la frecuencia del amamantamiento de las ovejas Merino durante las dos primeras semanas postparto es elevada (36 veces/ 24 h) y que después, decrece progresivamente hasta mostrar los valores más bajos en la séptima semana postparto (14 veces/ 24 h). Asimismo, el tiempo promedio por amamantamiento disminuye drásticamente de 41 s a 13 s de la segunda a la quinta semana postparto, respectivamente. Este estudio también indicó que la actividad del amamantamiento

es más intensa durante el día que durante la noche. De igual manera, en esta especie las conductas del amamantamiento de las madres que amamantan a crías de parto simple o múltiple también han sido estudiadas ampliamente (Hess *et al.*, 1974; Graves *et al.*, 1977; Hinch, 1989). Así, por ejemplo, el estudio de Graves *et al.* (1977) describe que los corderos de parto simple son amamantados más frecuentemente que los corderos de parto triple (de 1 a 2 amamantamientos/ h y de 0.2 a 1 amamantamientos/ h, respectivamente). Pero en otro estudio Ewbank (1967) encontró que el tiempo promedio por amamantamiento durante la primera semana de lactación fue similar tanto en corderos simples (41 s), como en los corderos mellizos (42 s). Este mismo autor también indicó que a partir de la décima semana postparto, la mayoría de los corderos mellizos tienen preferencias por un medio de la ubre de su madre para amamantarse y que el resto, se amamantaron en ambos medios de la ubre de una manera aleatoria (Ewbank, 1964). Una posible causa de diferencias entre los resultados de estos estudios es el tipo de definición del amamantamiento, dependiendo si se toma en cuenta o no el tiempo de succión por parte de cada cría cuando están succionando al mismo tiempo. Otro elemento que en algunos casos no está definido claramente es si los resultados se refieren al tiempo de amamantamiento de la madre, o de cada cría, o del total de las dos crías.

En la especie caprina son pocos estudios publicados al respecto. Lévy y Alexandre (1985) reportaron que la conducta del amamantamiento de los cabritos Criollos de la Isla de Guadalupe en el Caribe, se caracteriza por una elevada frecuencia del amamantamiento de la primera a la quinta semana de vida (13 veces/ 6 h). Posteriormente, esta frecuencia disminuye significativamente a la sexta semana postparto (6 veces/ 6 h). Asimismo, en ese estudio se observó que el tiempo promedio por amamantamiento de los cabritos fue elevado durante las primeras cuatro semanas postparto (26 s), para después disminuir de la quinta a la doceava semana postparto (18 s). Resultados similares hemos encontrado en las cabras Criollas de la

Comarca Lagunera en el Norte de México. Sin embargo, en estos animales la época del año en que ocurren los partos puede influir sobre la conducta del amamantamiento (Poindron *et al.*, 1996). Al respecto, determinamos que la frecuencia del amamantamiento de estas cabras cuando paren en primavera no varía significativamente durante las primeras cuatro semanas de lactación (de 21 a 16 veces / 12 h, respectivamente; Hernández *et al.*, 1995). En cambio, Delgadillo *et al.* (1997) encontraron que la frecuencia del amamantamiento en estas mismas cabras cuando paren durante el invierno, disminuye significativamente de la primera a la cuarta semana postparto (de 39 a 14 veces/ 12 h, respectivamente). Además, los valores de la frecuencia del amamantamiento registrada en el estudio realizado durante la primavera, fueron inferiores hasta en un 50 % de los registrados en el estudio de invierno. Una posible explicación de esas diferencias es un cambio en la repartición de los ritmos de succión entre el día y la noche en primavera debido al fuerte calor que se registra en esta época en la región de la Comarca Lagunera. Sin embargo, se puede observar de manera general que la conducta obtenida en estos estudios, se asemeja a las variables que caracterizan la conducta del amamantamiento en ovinos.

En las cabras sin embargo, no hay estudios que describan los ritmos del amamantamiento en el período inmediato al parto. De hecho, la mayoría de los estudios sobre conducta maternal en esta especie han sido realizados en los países templados, donde las cabras se encuentran bajo sistemas intensivos de producción de leche, con una separación madre - cría muy temprana (Ferrando y Boza, 1990). Por lo tanto, no existen estudios en las cabras mantenidas en sistemas más extensivos como los existentes en los países tropicales y subtropicales como México.

Como ya se mencionó en la introducción, el cabrito tiene una tendencia a esconderse durante los primeros días postparto. A pesar de que la frecuencia del amamantamiento no ha sido

estudiada durante esta etapa inicial, se supone que deba ser bastante baja, pues las madres se reúnen con sus crías unas seis veces al día (Lickliter, 1984a,b; O'Brien, 1984). Esto contrasta con lo que es conocido en los dos estudios realizados durante la lactancia (Lévy y Alexandre, 1985; Delgadillo *et al.*, 1997), y que indican que a partir de los siete días postparto, el ritmo de amamantamiento es de varias veces por hora. Por lo tanto, se puede suponer que existe un incremento importante de este ritmo desde el parto a la primera semana de lactancia. Sin embargo, no existen resultados aproximados en esta especie. Por ello, desde el punto de vista básico resulta interesante estudiar esta conducta en un rumiante con crías escondedizas.

Objetivo

Caracterizar la conducta de amamantamiento en la cabra desde el período inmediato al parto hasta los primeros dos meses de lactancia.

Hipótesis

En este estudio se propone que, debido a la conducta escondediza que muestra el cabrito al inicio de su vida, la actividad de amamantamiento de las cabras se incrementa desde el parto a la primera semana de lactancia.

Material y Métodos

Animales

Se utilizaron 10 cabras multíparas de la raza Alpina. Cinco de ellas amamantaron a un cabrito y cinco dos cabritos. La fecha promedio del parto fue el 20 de enero de 1997 \pm 8.0 días (promedio \pm sem). Todas las madres amamantaron a sus propias crías y permanecieron juntas durante los dos primeros meses de lactancia. La alimentación que recibieron estos animales fue asignada según los requisitos del estadio fisiológico y el tamaño de la camada (NRC, 1981) y consistió de heno de alfalfa y alimento concentrado que contenía un 14 % de proteína cruda. Además, el agua y sales minerales estuvieron a libre acceso. Las crías tenían acceso al

alimento ofrecido a las madres y disponían de un área especial para consumir concentrado durante las mañanas. Todos los animales fueron alojados en un corral abierto provisto con sombra y en el cual tenían un espacio de 5 m² por madre-camada.

Determinación de la conducta de amamantamiento

Las cabras y sus crías fueron observadas continuamente desde el parto hasta las primeras seis horas postparto. Después, las observaciones fueron realizadas de las 8.00 a las 14.00 h, del día 2 al 7 de lactancia y después semanalmente hasta el día 56 postparto. Para realizar las observaciones en cabras con dos crías, un observador registraba las conductas de un solo par madre-camada, mientras que para observar a las cabras con una cría un observador podía seguir hasta dos madres y sus crías al mismo tiempo. En cada ocasión se registró en papel la hora del día y el tiempo durante el cual las crías eran amamantadas por sus madres. Después los datos obtenidos fueron capturados en la computadora y las diferentes características de la conducta de amamantamiento de las cabras fueron calculadas. En este trabajo, se utilizó la terminología usada por Delgadillo *et al.* (1997), y con esos criterios, se determinaron las variables de la conducta de amamantamiento en cada período de la lactancia.

Variables conductuales evaluadas

El término de *amamantamiento* se utilizará para hablar de la conducta de la madre, mientras que el término de *succión* se utilizará para referirse a la conducta de las crías.

En las madres:

Amamantamiento: Tiempo durante el cual una madre tiene al menos un cabrito succionado de su ubre por un período mínimo de 5 segundos. En el caso de una interrupción por parte de la cría después de este tiempo inicial de 5 segundos, si el cabrito reiniciaba la succión dentro de un lapso máximo de 2 segundos (por ejemplo cuando cambia de teta), se consideraba como el

seguimiento del mismo amamantamiento. Si reiniciaba su actividad después de más de dos segundos, se consideraban como dos amamantamientos separados.

Sesiones de amamantamiento: Es el número de períodos durante los cuales existió actividad de amamantamiento y cuyo intervalo entre amamantamientos no fue mayor a 20 min. Se calculó diariamente las sesiones de amamantamiento en seis horas durante la primera semana postparto a partir del día 2 y después semanalmente hasta el mes de lactancia.

Frecuencia de episodios de amamantamiento: Se define como el número de veces en que la madre amamantó a la (s) cría (s) en un período de seis horas de observación (figura 2). Esta variable fue expresada como número de episodios de amamantamiento.

Intervalo promedio entre amamantamientos: Es el tiempo promedio que transcurre desde el final de un amamantamiento, hasta el inicio del siguiente amamantamiento en un período de seis horas de observación. Esta variable fue expresada en minutos (min)

Tiempo total de amamantamiento: Este es el tiempo total utilizado por las cabras para el amamantamiento de sus crías en un período de 6 horas de observación. Esta variable fue expresada en minutos (min).

Duración promedio por episodio de amamantamiento: Este tiempo es el promedio de un episodio de amamantamiento de la madre en un período de 6 horas de observación. Esta variable fue expresada en segundos (s).

Porcentaje de rechazos al amamantamiento: Se refiere a cuando la madre no permitió la aceptación de sus crías, cuando estas realizaban el intento de amamantamiento. Incluye intentos en los cuales los cabritos no alcanzaron a agarrar la teta y los en los cuales los hicieron pero cuya duración de succión fue menor de 5 segundos. Esta variable se expresó en porcentaje del total de intentos no exitosos más los exitosos.

Amamantamientos terminados por la madre: Es el porcentaje de amamantamientos terminados por alguna acción de la madre (generalmente movimiento brusco de la pata o desplazamiento) en cada período de 6 horas de observación.

En las crías:

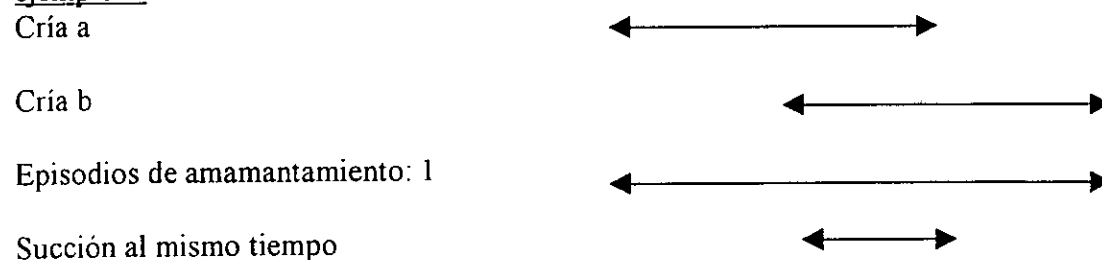
Frecuencia de succión

Es el número de veces en que las crías se amamantaron de sus madres en un período de seis horas de observación. Esta variable fue expresada en número de succiones. La definición de una succión exitosa fue una succión de una duración mínima de 5 s. Al igual que para los amamantamientos, se consideró que las succiones eran separadas si el intervalo entre ellas era mayor a dos segundos.

Porcentaje de succiones realizadas al mismo tiempo

Esta variable fue determinada sólo en las crías gemelas y es el porcentaje de succiones realizadas al mismo tiempo por los dos cabritos en camadas de crías gemelas. Esta variable fue expresada en porciento.

ejemplo 1:



ejemplo 2:

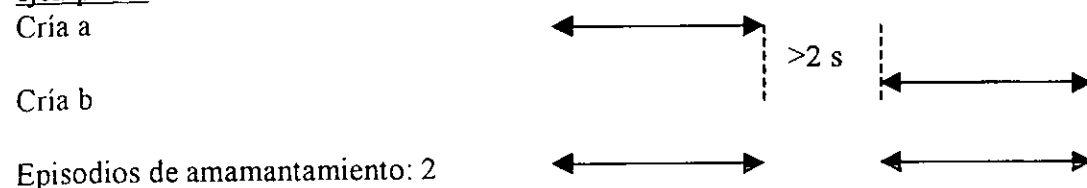


Figura 2. Cálculo del número de episodios de amamantamiento en una cabra con dos crías.

Análisis estadísticos

Las variables conductuales que presentaron una distribución normal (prueba de Lilliefors), se analizaron con un MANOVA para medidas repetidas (factor tiempo postparto y factor tamaño de camada). Cuando las variables no presentaron una distribución normal, se utilizaron las pruebas no paramétricas. Los resultados son expresados en promedio \pm error estándar (\pm sem).

Resultados

Variables evaluadas en las madres:

Sesiones de amamantamiento / 6 h

El número de sesiones de amamantamiento fue diferente entre cabras con una y dos crías ($p < 0.01$; figuras 3 y 4). En efecto, en el día dos de lactancia las cabras con dos crías tuvieron 4.4 ± 0.4 sesiones/6 h, mientras que las cabras con una cría solo 2.8 ± 0.4 sesiones/6 h ($p < 0.05$). Asimismo, en el día 6 de lactancia las cabras con dos crías tuvieron 4.4 ± 0.4 sesiones/6 h, mientras que las cabras con una cría solo 3.0 ± 0.2 sesiones/6 h ($p < 0.05$).

Frecuencia de los episodios de amamantamiento en las madres.

Dos cosas importantes emergen de este estudio, primero, como se muestra en la figura 5 la frecuencia de amamantamiento es elevada el día del parto y disminuye significativamente ya en el segundo día postparto tanto en madres con una cría, como también en aquellas que amamantaron a dos. En efecto, en las cabras con dos crías, esta variable disminuye de 75.2 ± 14.3 episodios de amamantamiento durante las primeras seis horas postparto a 41.0 ± 10.0 episodios / 6 h en el día 2 postparto ($p < 0.01$) y de 37.6 ± 6.7 a 9.8 ± 3.2 episodios / 6 h, respectivamente ($p < 0.05$) en cabras con una cría. Segundo, las madres con dos crías muestran mayor frecuencia de amamantamiento que las madres con una cría en los días 2 (41.0 ± 9.8 vs 9.8 ± 3.2 episodios / 6 h respectivamente; $p < 0.05$), 3 (41.4 ± 8.4 vs 13.2 ± 4.1 episodios / 6 h, respectivamente; $p < 0.05$) y 6 (19.2 ± 3.5 vs 7.4 ± 0.5 episodios / 6 h, respectivamente; $p < 0.05$)

postparto. Asimismo, la disminución en la frecuencia de amamantamiento de la primera a la octava semana de lactancia es muy marcada en cabras con gemelos (de 13.6 ± 3.0 a 5.2 ± 0.3 episodios / 6 h, respectivamente), mientras que en cabras con una cría esta frecuencia solo paso de 7.2 ± 1.5 a 2.6 ± 0.2 episodios / 6 h, respectivamente ($p > 0.05$).

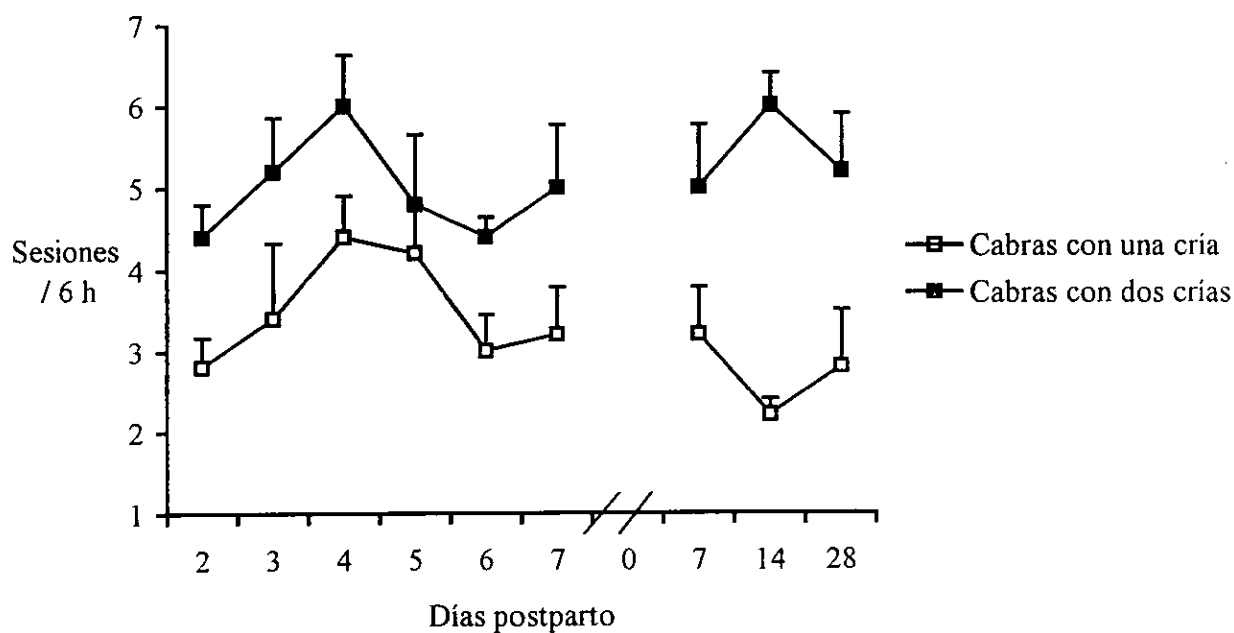


Figura 3. Número promedio (\pm SEM) de sesiones de amamantamiento en cabras con una y dos crías en un periodo de 6 h de observación, durante la primera semana postparto y en las primeras cuatro semanas postparto.

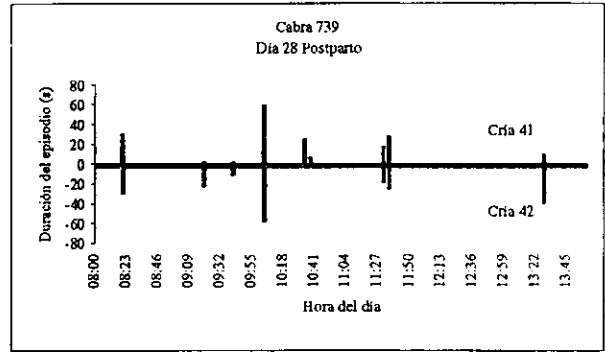
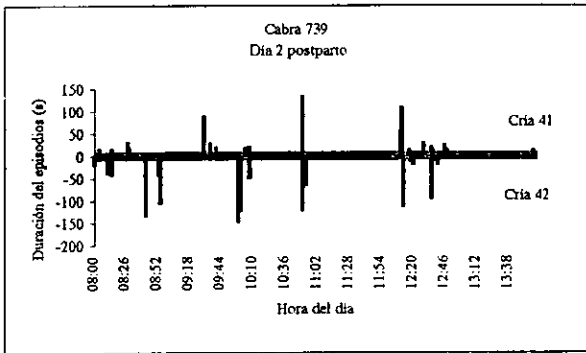
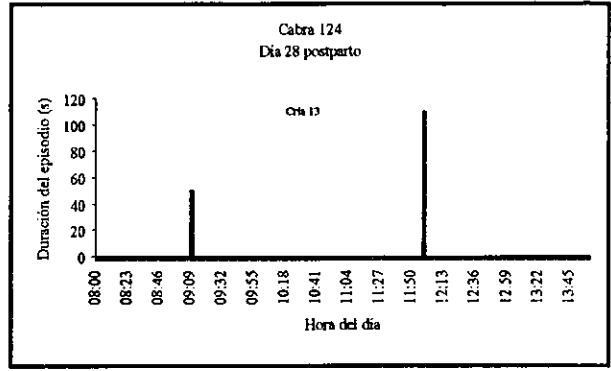
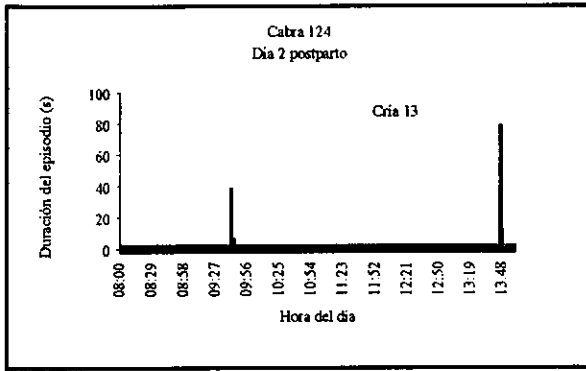


Figura 4. Actogramas que ejemplifican la distribución de los episodios de amamantamiento en una cabra con una cría (panel superior) y en una cabra con dos crias (panel inferior) durante el día 2 y 28 de lactancia.

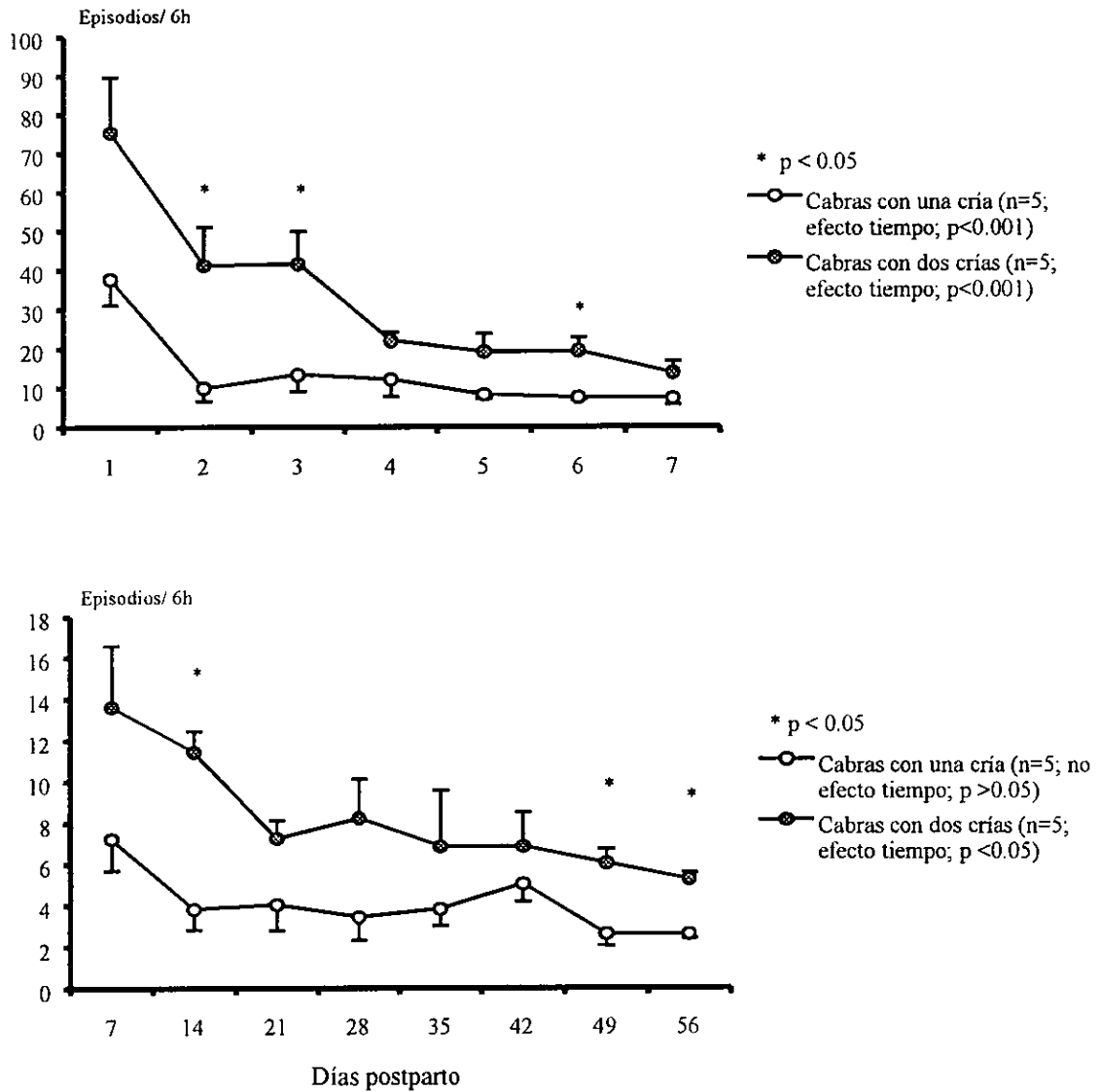


Figura 5. Evolución promedio (\pm SEM) de la frecuencia de episodios de amamantamiento durante el curso de la primera semana de lactancia (panel superior) y durante las primeras ocho semanas (panel inferior). Los asteriscos denotan diferencias significativas entre cabras con una y dos crías ($p < 0.05$).

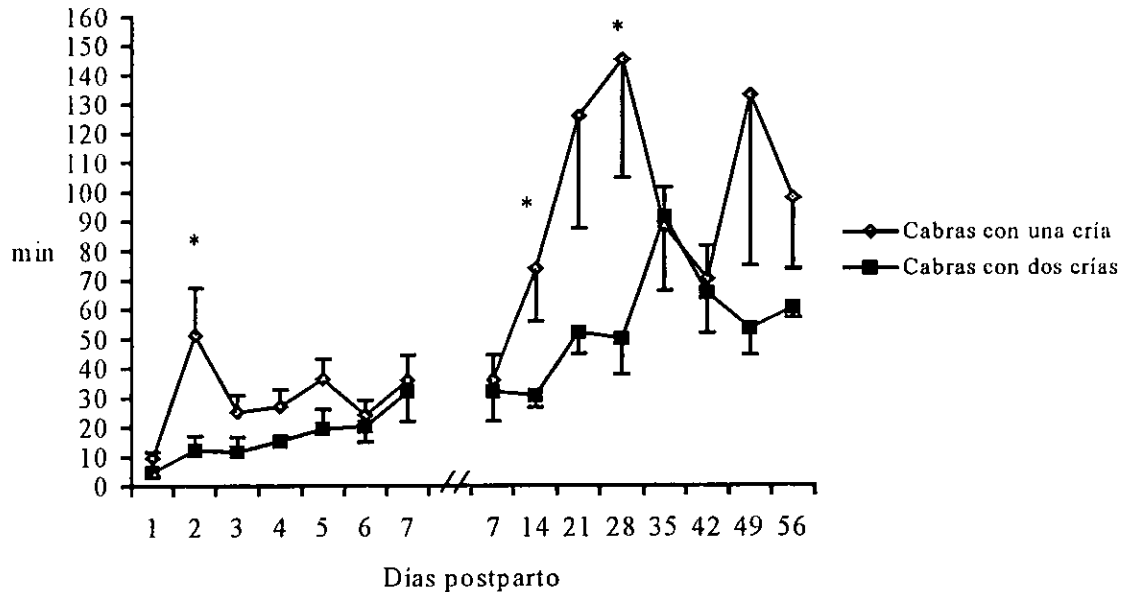


Figura 6. Evolución del intervalo promedio (\pm SEM) entre amamantamientos durante los primeros dos meses de lactancia en cabras con una ($n=5$) y con dos crías ($n=5$). El asterisco denota diferencia significativa entre los dos grupos ($p \leq 0.05$).

Intervalo promedio entre amamantamientos.

En esta variable, el MANOVA reveló un efecto general del tiempo postparto del día 1 al 7 ($p < 0.001$), indicando que este intervalo se incrementa. Además se detectó una interacción tiempo x camada ($p < 0.05$), lo cual sugiere que este intervalo cambió de modo distinto entre cabras con una y dos crías. Del día 7 al 56 postparto este intervalo fue mayor en las cabras con una cría en algunos períodos de la lactancia, como lo muestra la figura 6. En efecto, el MANOVA únicamente mostró un efecto significativo del tamaño de camada ($p < 0.05$), mientras que el efecto del factor tiempo y la interacción tiempo x grupo no fueron estadísticamente significativos. Lo anterior es debido en parte a que, en las cabras con una

cría, este intervalo no varió ($p>0.05$), mientras que en las cabras con dos crías sí existió una variación a través del tiempo ($p<0.05$).

Tiempo total de amamantamiento.

En cabras con crías gemelas existió una disminución marcada de este tiempo durante la primera semana postparto. Así, este tiempo disminuyó de 35.6 ± 7.0 min durante las primeras seis horas postparto a 6.7 ± 1.0 min / 6 h en el día 7 postparto ($p<0.001$). Asimismo, en la primera semana de lactancia las cabras con 2 crías emplearon mas tiempo amamantando que las cabras con una cría. Por ejemplo, durante el día dos postparto las cabras con gemelos amamantaron 21.5 ± 5.7 min en 6 h, mientras que las cabras con una cría solo 3.5 ± 1.4 min en 6 h; ($p<0.05$). También, la comparación mostró diferencias significativas durante los días 7 (6.7 ± 1.0 vs 2.6 ± 0.7 min / 6 h, respectivamente; $p<0.05$), 14 (6.85 ± 0.9 vs 1.8 ± 0.4 min / 6 h, respectivamente; $p<0.05$) y 49 (1.6 ± 0.2 vs 0.8 ± 0.2 / 6 h, respectivamente; $p<0.05$) postparto (figura 7).

Duración promedio por episodios de amamantamiento.

A pesar de los grandes cambios a través del tiempo de estudio en los anteriores parámetros, durante la primera semana postparto, este tiempo no varió significativamente. De hecho, en cabras con crías gemelas este tiempo sólo pasó de 28.3 ± 1.3 s en el día del parto a 35.3 ± 9.2 s en el día 7 postparto; y de 22.3 ± 1.6 a 20.7 ± 2.2 s, respectivamente en cabras con una cría ($p>0.05$; en ambos casos). Después de la primera semana y hasta la octava semana postparto, el MANOVA con medidas repetidas reveló que la duración promedio por amamantamiento varió con el tiempo sólo en cabras con 2 crías ($p<0.05$; tabla1).

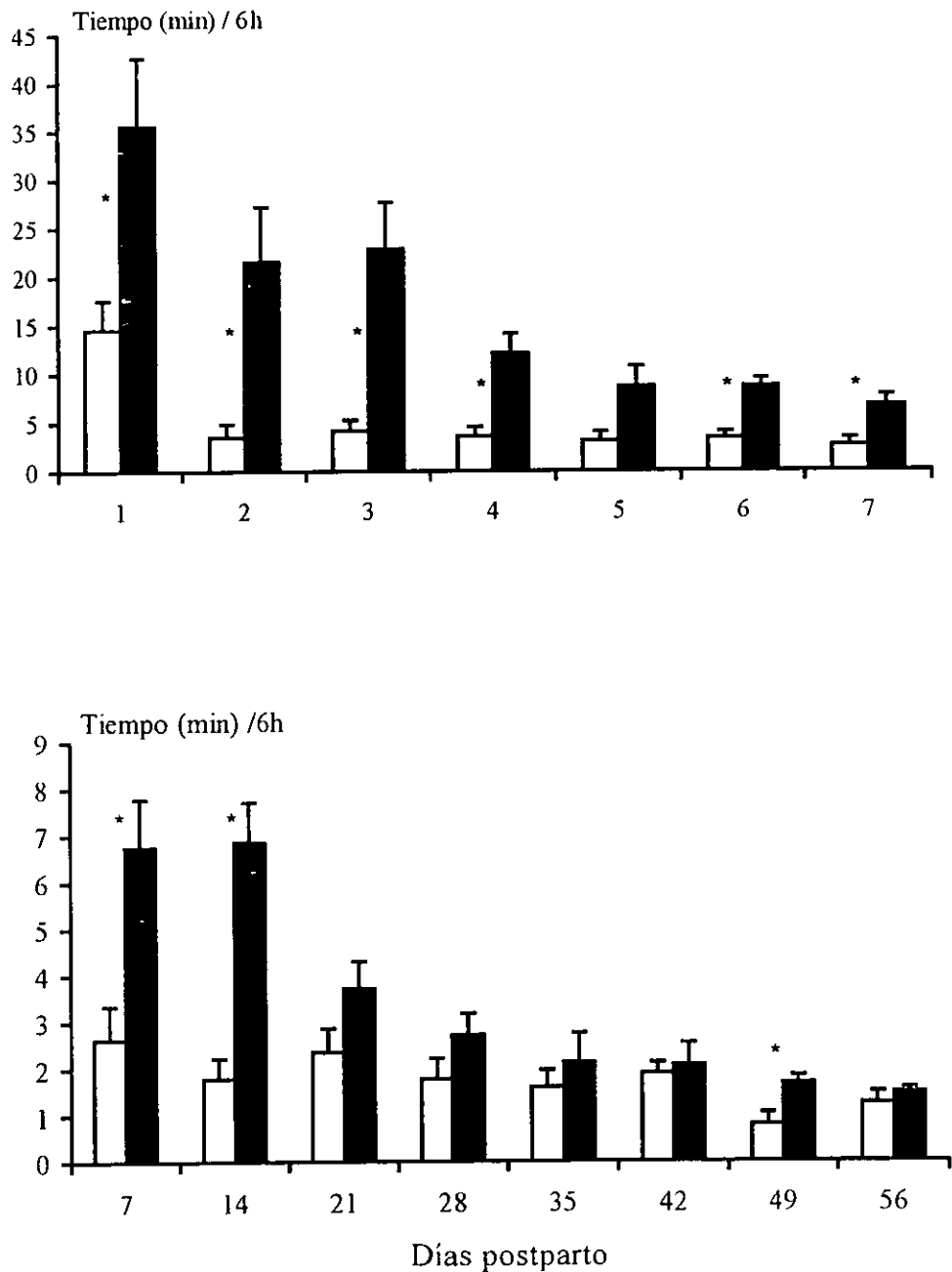


Figura 7. Evolución (promedio \pm SEM) del tiempo total de amamantamiento en las cabras durante el curso de la primera semana de lactancia (panel superior) y durante las primeras ocho semanas (panel inferior). Los asteriscos denotan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre cabras con una (\square) y dos (\blacksquare) crías. Esta variable varió durante la primera semana en ambos tipos de madres ($p < 0.01$, en ambos casos), sin embargo, de la 1ª a la 8ª semana la disminución fue significativa solo en cabras con dos crías ($p < 0.05$).

Tabla 1. Evolución (\pm SEM) de la duración promedio (s) de los episodios de amamantamiento durante los dos primeros meses de lactancia.

Cabras con:	Días postparto						Efecto tiempo
	1	4	7	28	42	56	
Una cría	22.3 \pm 1.7*	17.9 \pm 1.5*	20.7 \pm 2.5	37.0 \pm 11.0	26.2 \pm 5.0	28.6 \pm 4.6	n.s.
Dos crías	28.3 \pm 1.4	33.4 \pm 4.7	35.3 \pm 9.2	21.5 \pm 2.2	18.6 \pm 0.7	17.2 \pm 1.0	p<0.05

*Diferencia significativa con respecto a cabras con dos crías p < 0.05

Porcentaje de rechazos al amamantamiento

Durante la primera semana de lactancia (del día 1 al 7) fueron mínimos o no existieron rechazos al amamantamiento en las cabras con dos crías y en las cabras con una cría, respectivamente. Sin embargo, a partir del día 14 postparto (excepto el día 21) existió un mayor número de rechazos en las cabras con dos crías que en las cabras con una cría (ver probabilidades en figura 8; *U* de Mann-Whitney).

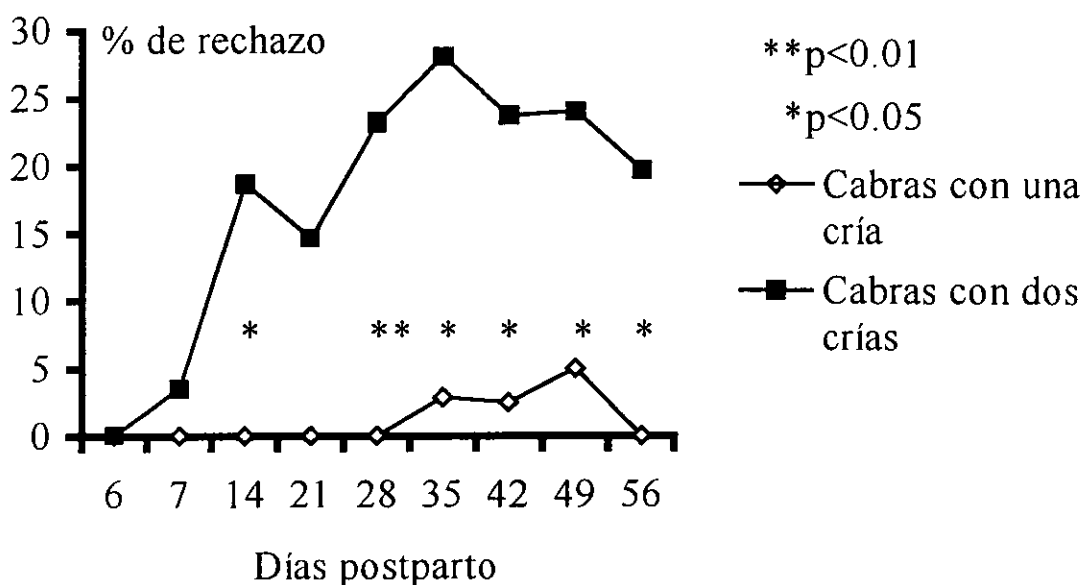


Figura 8. Evolución promedio del porcentaje de rechazos al amamantamiento en cabras con una (n=5) y dos crías (n=5), durante los primeros dos meses postparto.

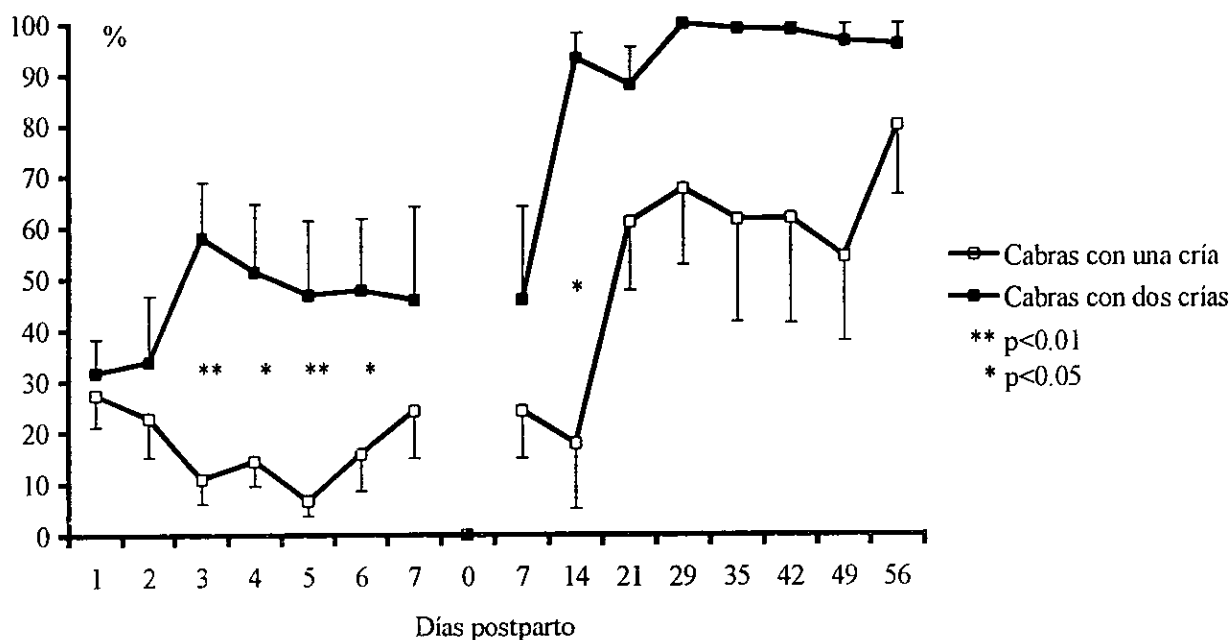


Figura 9. Evolución promedio (\pm SEM) de la proporción de amamantamientos terminados por la madre en cabras con una ($n=5$) y dos crías ($n=5$).

Amamantamientos terminados por la madre

Durante los dos primeros días de lactancia, una gran parte (de 40 a 90 %; figura 9) de los amamantamientos ocurridos fueron terminados por las crías tanto en cabras con una cría como en aquellas con dos. Después, la proporción de amamantamientos terminados por la madre se incrementó de 45.8 ± 18.4 % en el día 7 de postparto a 93.2 ± 5.0 % al día 14 postparto en madres con dos crías. En cambio, en madres con una cría, esta proporción solo cambió de 24.2 ± 9.3 % a 17.8 ± 12.7 % al día 14 de lactancia. Asimismo como se puede observar en la figura 6 a partir del día 3 postparto y en adelante, el control de la duración de los amamantamientos por la madre fue mayor en las cabras con dos crías que en las que amamantaron solo a una cría ($p<0.05$).

Variables evaluadas en las crías:

Frecuencia de succión

Durante la primera semana de vida de las crías, el MANOVA no mostró un efecto de tamaño de camada sobre esta variable. Sin embargo, tanto en cabritos sencillos como gemelos, existió una disminución a través del tiempo de esta frecuencia (figura 10; $p < 0.001$ en ambos casos). Como lo muestra la misma figura, después de la primera semana, en algunos períodos existe una mayor frecuencia de succiones en crías gemelas que en crías sencillas. Asimismo, esta variable disminuye de manera significativa en las crías gemelares de la primera (8.7 ± 1.9 succiones / 6 h) a la octava semana postparto (4.8 ± 0.3 succiones / 6 h). En el caso de las crías sencillas también existió una disminución, aunque esta no fue significativa: los valores pasaron de 7.2 ± 1.7 succiones 6 h a 2.6 ± 0.2 succiones / 6 h en los períodos respectivos.

Porcentaje de succiones realizadas al mismo tiempo.

El porcentaje de amamantamientos realizados al mismo tiempo en cabritos gemelos fue bajo durante la primera semana de lactancia (día 7: 23.8 ± 14.5 %) y después se incrementó significativamente en la segunda semana de lactancia (día 14: 59.0 ± 11.8 %; $p < 0.05$). De ahí en adelante este porcentaje fue elevado (figura 11), manteniéndose a más del 70% a partir del día 28 de lactancia.

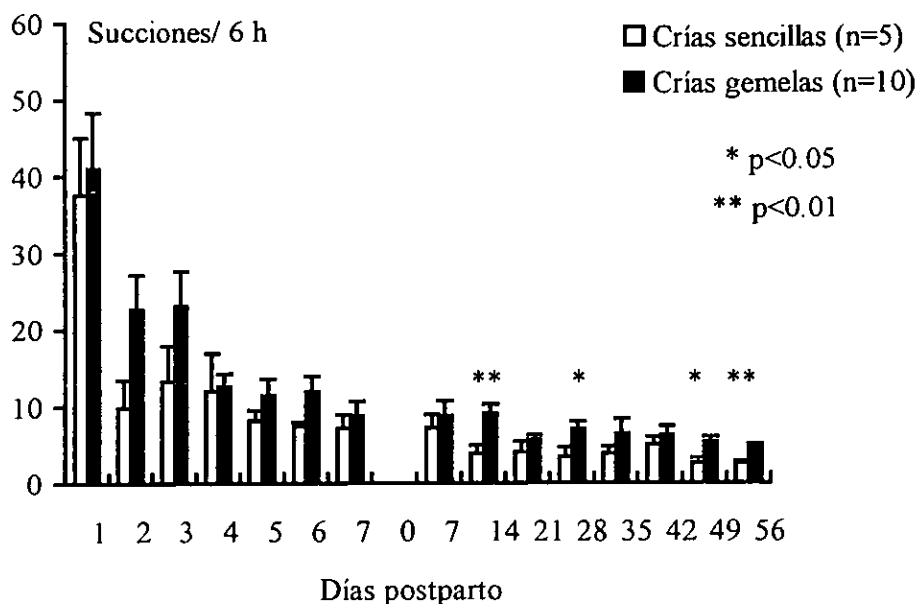


Figura 10. Evolución promedio (\pm SEM) de la frecuencia de succión en los cabritos sencillos ($n=5$) y gemelares ($n=10$) durante los primeros siete días de vida, y del día 7 hasta los dos meses postparto. En ambos tipos de cría (gamelares o sencillas) existió una disminución significativa de esta variable desde el nacimiento hasta el día siete ($p<0.001$ en ambos casos). Los asteriscos indican diferencias entre ambos tipos de crías.

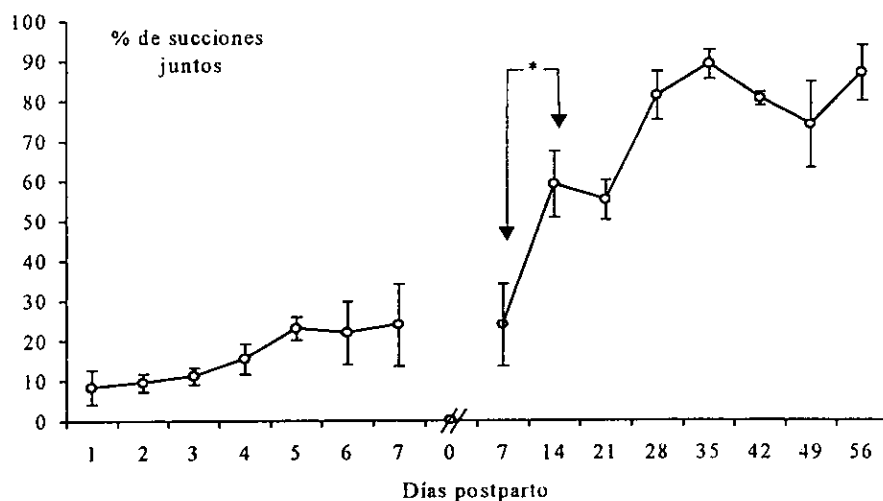


Figura 11 Porcentaje promedio (\pm SEM) de las succiones realizadas al mismo tiempo en crías gemelas durante la primera semana y hasta los dos primeros meses de vida. El asterisco indica un incremento significativo ($p<0.05$).

Discusión

Este es el primer estudio que describe la conducta espontánea de amamantamiento inmediatamente después del parto y durante la primer semana de lactancia en cabras.

La frecuencia de amamantamiento en las madres es elevada al parto y durante la primera semana de vida y disminuye de ahí en adelante. Este comportamiento es contrario a la hipótesis inicial, en la cual, se proponía que la frecuencia inicial de amamantamiento podría ser baja debido a la conducta escondediza del cabrito (Rudge, 1970; Lickliter, 1984a-b), y que se incrementaría significativamente a los siete días de lactancia.

Sin embargo, cuando se observa la distribución de las sesiones de amamantamiento en los actogramas, se puede notar que las cabras con una cría presentan un menor número de sesiones de amamantamiento (2 sesiones / 6 h) que las cabras con dos crías (5 sesiones / 6 h). Si se extrapola este valor obtenido en crías sencillas a 24 horas, resulta en 8 sesiones de amamantamiento/día. Este resultado se aproxima a lo reportado en esta misma especie por Lickliter (Lickliter, 1984a), quien encontró que durante los primeros 4 a 7 días de la lactancia, las madres y sus crías se reúnen 6 veces / día. Para explicar esa ligera diferencia se tiene que tomar en consideración varias cosas. Primero, el estudio de Lickliter (1984a) se realizó con cabras que tenían solo una cría; en cambio, en el presente trabajo las crías sencillas interactuaban con crías gemelas, lo cual pudo influir para estimular su actividad general y generar así más períodos de amamantamiento. Segundo, el área en donde estaban alojados los animales en el estudio de Lickliter (Lickliter, 1984a) fue mucho mayor que la de este estudio (> de 50 m² por par madre-cría) y posiblemente, el área reducida (aproximadamente 5 m² /madre-camada) incrementó los encuentros madre-cría y por ello también mayor número de sesiones de amamantamiento. Con relación a esto, se ha mostrado que en cerdas, las madres alojadas en corrales reducidos (8.6 m² / madre) muestran una mayor actividad de

amamantamiento que las madres alojadas en corrales más grandes (13.4 m^2 / madre; Burke *et al.*, 1998). Tercero, los cabritos en el estudio de Lickliter (1989a), tenían acceso a cajas de ocultamiento que sirvieron para imitar los sitios de ocultamiento naturales, lo cual incrementa la posibilidad de que la cría muestre la conducta escondediza como lo sugiere Allan *et al.* (1991). Sería necesario realizar estudios adicionales en donde los animales sean mantenidos bajo diferente grado de confinamiento para determinar los efectos de las características del medio sobre la conducta de amamantamiento.

Cuando se compara la frecuencia individual de amamantamiento en las crías, aunque los valores fueron ligeramente mayores en las crías gemelas durante la primera semana, no existieron diferencias significativas. Sin embargo, después de la primera semana en algunos periodos, la frecuencia individual de amamantamiento fue significativamente mayor en las crías gemelas que en las sencillas. Lo anterior no coincide con lo reportado por Lévy y Alexandre (1985) en los cabritos Criollos de la Isla de Guadalupe que son sometidos a un nivel de alimentación elevado. En efecto, en esos animales ellos observaron una mayor frecuencia de amamantamiento en las crías sencillas que en las gemelas de la segunda a la quinta semana de lactancia. Es probable que la raza utilizada tenga alguna influencia sobre los diferentes resultados obtenidos. Así, en el presente trabajo como los animales fueron de raza con característica para producción de leche (Alpina), es posible que las madres permitieron amamantar a sus crías gemelas más frecuentemente que las crías sencillas durante los primeros dos meses de lactancia, debido a una mayor disponibilidad de leche. En cambio, es posible que en razas no especializadas en producción de leche (como lo es la cabra Criolla de la Isla de Guadalupe; Chemineau *et al.*, 1984), la madre comienza a restringir las sesiones de amamantamiento si ella tiene dos crías y, por ello, ella solo las amamanta cuando las dos están presentes, disminuyendo así el número de amamantamientos, similar a lo que se ha observado

en ovejas (Ewbank, 1964). Al respecto, en el presente estudio se encontró que en cabritos gemelos la proporción de amamantamientos realizados al mismo tiempo se incrementa significativamente de la primera a la segunda semana postparto. Asimismo, la proporción de amamantamientos terminados por la madre es mayor desde el día 3 postparto en cabras con crías gemelas que en cabras con una cría. También existe un incremento importante en los amamantamientos terminados por la madre del día 7 al 14 postparto en cabras con crías gemelas. Es posible que eso refleje la tendencia de la madre a forzar sus crías a succionar juntas. Lo anterior podría tener alguna ventaja adaptativa en madres con camada múltiple, ya que ella comienza a controlar los amamantamientos y de esta manera asegura una distribución equitativa del suministro de leche entre los dos miembros de la camada, como lo sugiere otro estudio en cabras Criollas del norte de México (Delgadillo *et al.*, 1997). En bovinos se ha encontrado que las vacas que producen una mayor cantidad de leche, amamantan con menor frecuencia a sus becerros que las vacas que tienen menor producción (Odde *et al.*, 1985; Day *et al.*, 1987). Tal vez esta relación podría aplicarse a las cabras, pues al comparar el número de amamantamientos de los cabritos del presente estudio y los reportados por Lévy y Alexandre (1985) se puede notar que es mayor en este último estudio, sugiriendo que posiblemente los animales de nuestro trabajo producen más leche y por ello amamantan con menor frecuencia. En forma similar, la frecuencia de episodios de amamantamiento en las cabras del presente trabajo (independientemente del tamaño de camada) es menor que la reportada por Delgadillo *et al.* (1997) en las cabras Criollas del Norte de México, cuando paren en invierno. Por ejemplo, si en este estudio se extrapola el número de amamantamientos obtenido al día 7 postparto de 6 h a 12 h, resulta alrededor de 21 episodios/ 12 h. Este valor es aproximadamente un 50 % menor de lo reportado por Delgadillo *et al.* (1997) quienes encontraron que al día 7 de lactancia las madres amamantan en promedio hasta 40 veces / 12

horas de observación. Esta diferencia también podría ser un efecto del nivel de producción de leche de las madres, ya que aunque los animales utilizados por estos últimos autores son el resultado de una mezcla de razas (encastes de las razas Nubia y Alpina principalmente), posiblemente tengan menor potencial para producir leche que los animales de nuestro estudio y por ello presentan mayor frecuencia de amamantamiento. Aunque en el presente trabajo no se encontró una correlación significativa entre las variables de la conducta de amamantamiento de las madres con su producción de leche (posiblemente debido al reducido número de observaciones; $n=10$), sería interesante investigar en cabras, el efecto de la interacción entre el nivel de producción y tamaño de camada sobre la conducta de amamantamiento.

La mayor frecuencia de succión registrada en crías gemelas en el presente trabajo es similar a lo reportado en ovejas por Ewbank (1964, 1967) quien encontró que de la primera a la quinta semana de lactancia, los corderos gemelos se amamantan más frecuentemente que los corderos sencillos. Una posible explicación que sugirió Ewbank en ovinos (Ewbank, 1967) es que pudiera ser que, aunque las madres con dos crías producen más leche que las madres con una cría, no obstante, ellas no alcanzan a producir el doble de lo que producen las madres con una cría y por ello, quizás las crías gemelas posiblemente tengan más hambre, teniendo así una mayor frecuencia de amamantamientos. Por lo cual se puede sugerir que las madres de una misma especie y dentro de una misma raza, con mayor producción de leche, permiten a sus crías gemelares amamantarse más frecuentemente, y las crías sencillas, debido a que no existe otro miembro de la camada que compita por la obtención de leche, bajan su actividad de amamantamiento y posiblemente se sacian en algunos cuantos amamantamientos.

La proporción de rechazos al amamantamiento en el presente estudio es diferente a la obtenida en las cabras Tōkara del Japón, en las cuales aunque se utilizaron madres con una cría, la tasa

de rechazos fue mayor (Bungo *et al.*,1998). Por ejemplo, en este último estudio la tasa promedio de rechazos al amamantamiento se incrementó significativamente de 25.4 % en la primera semana de lactancia a 63.5 % a la tercera semana postparto. En cambio, en nuestro estudio las cabras con una cría no tuvieron una tasa de rechazo mayor al 5 % en ningún estadio durante las primeras 8 semanas de lactancia; sólo en las madres con dos crías la tasa de rechazo fue mayor a partir del día 14 (menos el día 21) que en las cabras con una cría, aunque esa tasa de rechazo no fue mayor de un 30 %. Esta diferencia en la tasa de rechazos respecto al estudio de Bungo (Bungo *et al.*,1998) también podría explicarse debido a un nivel de producción de leche diferente entre las razas. No obstante, se tiene que considerar que en el estudio en cabras Tokara, cada madre y su cría tenían un espacio de solo 2.24 m², por lo cual las crías posiblemente se amamantaron más frecuentemente y en consecuencia existió una mayor tasa de rechazos. Por otro lado, las tasas de rechazo encontradas en el presente estudio se asemejan a lo obtenido en venado Rojo en el cual se registró que la proporción de rechazos al amamantamiento se incrementa de menos del 15 % durante la segunda semana de lactancia a un 50 % a las 24 semanas postparto (Clutton-Brook *et al.*, 1982).

De manera general los cambios de las variables de la conducta de amamantamiento (como la frecuencia de episodios de amamantamiento, tiempo total de amamantamiento y la duración promedio por amamantamiento) encontrados durante las primeras 8 semanas postparto en este estudio es muy similar a lo reportado en ovejas por varios autores (Bareham, 1976; Ewbank, 1964, 1967; Fletcher, 1971; Gordon y Siegmann, 1991). La elevada frecuencia de amamantamiento registrada después del parto se debe a que la madre y su (s) cría (s) se encuentran en un proceso de vinculación mutua. Al respecto, se ha determinado en corderos que los amamantamientos ocurridos durante las primeras 6 horas postparto tiene una influencia facilitatoria sobre el establecimiento de una relación preferencial hacia su madre,

aunque su mantenimiento no depende fuertemente del amamantamiento (Nowak *et al.*, 1997). Más recientemente se demostró en corderos que es la ingestión de calostro lo que facilita el desarrollo de la relación preferencial hacia su madre (Goursaud y Nowak, 1999). Por otro lado, la disminución en la frecuencia de amamantamiento, posiblemente está relacionada al consumo de fuentes alternativas de alimento por las crías (Lévy y Alexandre, 1985; Gordon y Siegmann; 1991). Asimismo, podría relacionarse a una gradual desaparición de la conducta materna, la cual conduce al destete de las crías. Sin embargo, los factores implicados en este proceso no han sido investigados en esta especie.

Conclusiones

En condiciones de mantenimiento intensivo, la cabra lechera muestra espontáneamente una elevada frecuencia de amamantamiento después del parto, y ésta disminuye durante la primera semana de lactancia. Esta disminución continua hasta los primeros dos meses postparto. Este comportamiento se asemeja a lo reportado en las hembras lactantes de la especie ovina.

Aunque en el presente trabajo no se estudió en particular la conducta de actividad de la cría, se puede observar que la frecuencia de amamantamiento tanto de la madre como de las crías disminuye a partir del día 1 al 4 postparto. En cambio, el número de sesiones en que la madre se dedica al amamantamiento de sus crías, se incrementa durante ese período, posiblemente debido a la desaparición de la conducta escondediza de la cría.

La frecuencia y el tiempo total de amamantamiento son mayores en las cabras con dos crías que en las que amamantan sólo una cría. Sin embargo, la duración promedio por amamantamiento no es diferente.

Las madres con dos crías comienzan a controlar los amamantamientos desde el tercer día postparto, y esta conducta se hace más evidente entre los días 7 y 14 de lactancia. En cambio, en las cabras con una cría el control de los amamantamientos ocurrió hasta la tercer semana de

lactancia. Lo anterior posiblemente favorece un equitativo suministro de leche entre los 2 miembros de la camada.

La proporción de rechazos fue mayor en cabras con dos crías. Sin embargo, esta proporción no excedió mas allá del 30 % durante los dos primeros meses de lactancia. Esto es debido posiblemente a una mayor potencial de producción de leche en esta raza que en las demás estudiadas hasta la fecha.

Se sugiere que las condiciones del medio y el nivel de producción de leche en las diferentes razas de cabras podría modular la conducta espontánea de amamantamiento.

Estudio 2

Efecto de la anosmia preparto y la ausencia de selectividad maternal en cabras y ovejas sobre la conducta de amamantamiento, la producción de leche y el crecimiento de las crías

Introducción

En roedores como las ratas y los ratones, la anosmia (incapacidad para percibir los olores), inducida a hembras gestantes mediante la ablación de los bulbos olfatorios, tiene repercusiones importantes sobre la conducta maternal. En efecto, en estas especies la bulbectomía puede provocar desde un retardo en el establecimiento del primer amamantamiento, hasta efectos como infanticidio en animales que paren por primera vez (Holloway *et al.*, 1980; Herrenkohl y Rosenberg, 1972). Sin embargo, esos efectos han sido atribuidos en parte a cambios neuroquímicos ocasionados al realizar la bulbectomía (Fleming y Rosenblatt, 1974; Leonard y Tuite, 1981). Asimismo, algunos estudios en ratas sugieren que la anosmia posiblemente interfiera negativamente con la fisiología de la lactancia y por ello sobre la producción de leche, lo cual está relacionado con un crecimiento disminuido y con una alta mortalidad de las crías en las madres bulbectomizadas (Holloway *et al.*, 1980).

En ovejas, el papel de las señales olfatorias es de suma importancia para el mantenimiento de la conducta maternal al momento del parto. En efecto, en ovejas parturientas intactas, la sola privación de las señales olfativas conduce a perturbaciones en el despliegue de la conducta materna similares a los ocasionados por una privación completa de la cría (Poindron *et al.*, 1988). En cambio, cuando se les suprime de otras señales sensoriales emanadas por la cría (como las visuales, auditivas, y táctiles), la responsividad maternal no es afectada

drásticamente (Poindron y Le Neindre, 1980). Asimismo, se ha determinado que el líquido amniótico que es expulsado a través de la vagina y que se encuentra adherido a la cría en el momento del parto, es una señal olfatoria importante para el despliegue de la conducta maternal. Por ejemplo, si se elimina este líquido al momento del parto, ello conlleva a perturbaciones en la conducta maternal, especialmente en madres sin experiencia (Lévy y Poindron, 1984, 1987a y b). Por otra parte, tanto en cabras como en ovejas, la madre establece un vínculo selectivo con su camada mediante las señales olfativas y por esto ella sólo permitirá el acceso a la ubre a su propia camada (Poindron, 1976a, Romeyer *et al.*, 1994). Está bien documentado que el establecimiento de este vínculo depende de las señales olfatorias de la cría, pues la anosmia preparto previene el desarrollo de la selectividad maternal (Bouissou, 1968; Poindron 1976a-b; Lévy *et al.*, 1995). Hasta hace poco, se pensaba que no existía un mecanismo que compensara la deficiencia olfatoria para el reconocimiento de la cría. Aunque el reconocimiento visual y acústico también existen (Poindron y Carrick, 1976) se pensaba que se desarrollaba en varios días o semanas (Morgan *et al.*, 1975; Alexander y Shillito, 1977; Shillito-Walser, 1978). Sin embargo, recientemente se encontró que las ovejas son capaces de discriminar a su cría de una extraña en una prueba de elección a las 8 horas postparto sin la ayuda de las señales olfatorias (Terrazas *et al.*, 1999; Ferreira *et al.*, 2000). Además, se encontró que a un mes de lactancia las ovejas anósmicas muestran signos de discriminación al amamantamiento, lo cual fue relacionado a un mayor número de rechazos hacia las crías extrañas (Ferreira *et al.*, 2000). Lo anterior sugiere que es posible el desarrollo de un proceso compensatorio en el control del amamantamiento selectivo. Sin embargo, durante la lactancia establecida el solo estudio realizado en ovejas sobre el efecto de suprimir las señales olfatorias, mediante una anosmia (inducida por la ablación de los bulbos olfatorios), sugiere que no existe una conducta selectiva en ese estadio de la lactancia. En cambio, se sugirió que

la anosmia afecta la conducta de amamantamiento de varias maneras. Por ejemplo, en las crías de madres anósmicas, los patrones conductuales que culminan con el amamantamiento son modificados. Asimismo, en las madres anósmicas la proporción de éxitos al amamantamiento fue menor que en las madres intactas durante las primeras tres semanas de lactancia, resultando en una menor frecuencia de amamantamiento (Poindron, 1976 b). Resultados similares se han observado en los cabritos hijos de cabras anósmicas después del parto (Romeyer *et al.*, 1994). Sin embargo, no existen estudios que muestren si las cabras u ovejas siguen mostrando una selectividad durante el amamantamiento espontáneo en etapas posteriores de la lactancia.

Concerniente al papel del olfato materno sobre la fisiología de la lactancia en rumiantes, se ha reportado que la anosmia en vacas (realizada por una traqueotomía) induce desde una disminución hasta un cambio negativo en el nivel de producción de leche (Griffith y Williams, 1996). Sin embargo, en esta especie el efecto es más drástico cuando se suprimen simultáneamente las señales visuales y olfatorias.

Los antecedentes anteriores conducen a pensar que como las señales olfatorias en estas especies son las responsables para la aceptación o rechazo de una cría a la ubre; entonces, el bloqueo de su percepción por una anosmia desde antes del parto, el cual resulta en una ausencia de conducta selectiva a la ubre, posiblemente perturben también la actividad de amamantamiento y la producción de leche durante la lactancia. Sin embargo, en la cabra no se ha estudiado hasta hoy si la anosmia pudiera tener un efecto sobre estos parámetros, e incluso en la oveja, el único estudio llevado a cabo hasta la fecha fue limitado al primer mes postparto y fue realizado en hembras bulbectomizadas (Poindron, 1976 b).

Objetivos

En este estudio se realizaron dos experimentos, uno en la especie ovina para determinar el posible desarrollo de una conducta selectiva en madres anósmicas más allá del primer mes de la lactancia y sin lesión de los bulbos olfatorios.

En otro experimento en la especie caprina se determinaron los efectos de la anosmia sobre la actividad espontánea del amamantamiento, la producción de leche y el crecimiento de las crías.

Hipótesis

La primera hipótesis de trabajo es que las ovejas anósmicas, pueden mostrar signos de selectividad al amamantamiento conforme avanza la lactancia.

Asimismo, como segunda hipótesis, se postula que tanto en cabras como en ovejas, la anosmia afecta negativamente la actividad de amamantamiento, la producción de leche y por ello, el crecimiento de las crías podría ser menor.

Material y Métodos

Animales y condiciones de manejo

Experimento 1

En un primer experimento se utilizaron 20 ovejas (5 de la raza Columbia y 15 Rambouillet) múltiparas y su cordero simple. De estos animales 10 fueron intactos (grupo OI) y a 10 se les realizó una anosmia periférica un año antes (grupo OA) mediante la irrigación intranasal de una solución de sulfato de Zinc al 2.5 % + Xilocaina. El procedimiento se realizó similar al descrito en la sección de Materiales y Métodos Generales. Asimismo, la efectividad de la anosmia fue comprobada una semana antes del parto, a las 24 horas postparto y al final del estudio mediante el método descrito en esa misma sección. De igual manera, para confirmar que la anosmia fue asociada con la ausencia de selectividad, a las madres se les realizó una

prueba de selectividad a 24 horas postparto. En ambos grupos, las madres y sus crías permanecieron juntas durante todo el estudio. Cada grupo de ovejas fue alojado en un corral separado (10 x 15 m), el cual estaba provisto de sombra. Los animales fueron alimentados con heno de alfalfa, grano y minerales de acuerdo a su estado fisiológico (NRC, 1985).

Experimento 2

En este experimento, se utilizaron 10 cabras Criollas intactas con sus crías (CI; grupo intacto), la fecha promedio del parto en estas cabras fue el 17 de octubre de 1998 \pm 1.8 días (promedio \pm sem). Además se utilizaron 10 cabras Criollas anósmicas con sus crías (CA; grupo anósmico), y la fecha promedio del parto en estas cabras fue el 16 de octubre de 1998 \pm 1.0 días. En cada grupo, 7 cabras amamantaron a dos cabritos y 3 cabras a un solo cabrito. El CI estuvo constituido por 5 cabras nulíparas y 5 cabras múltiparas. El CA estuvo formado por 6 cabras nulíparas y 4 cabras múltiparas. La mucosa olfatoria fue destruida en las cabras del CA mediante la irrigación intranasal con Sulfato de Zinc ($ZnSO_4$) al 1.5 % de acuerdo al método descrito por Romeyer *et al.* (1994). Este procedimiento fue realizado a un mes antes del parto y se repitió a tres semanas antes del mismo. La deficiencia olfatoria fue confirmada a los 1, 30, y 56 días postparto mediante una prueba de elección de alimento como se describió en la parte de Material y Métodos Generales.

Las crías y sus madres permanecieron juntas hasta el final del estudio. Diferente al estudio anterior, en este trabajo, los animales fueron alojados en corrales individuales de 2 x 2 m previstos con sombra. Todos los animales fueron alimentados de acuerdo al tamaño de camada y al estado fisiológico (NRC, 1981). Para ello, se suministró heno de alfalfa, y concentrado a base de grano. El agua y las sales minerales estuvieron a libre acceso.

Determinación de la conducta de amamantamiento

Las variables evaluadas son las incluidas en la conducta de amamantamiento del estudio 1 por lo que su definición aparece en el estudio anterior.

Experimento 1 (estudio en ovejas)

En este experimento, la conducta se comenzó a registrar en ambos grupos (OI y OA) a los 7 ± 1.0 días de lactancia y después cada semana hasta el día 56. La hora de observación fue en ambos grupos de las 8:00 a las 10:00 horas del día. Se registro la hora del día y el tiempo durante el cual las madres amamantaron a sus crías. Con esos datos y utilizando los criterios del estudio anterior y los usados por Delgadillo *et al.* (1997) se calcularon las diferentes variables de la conducta de amamantamiento en las madres:

Número de episodios de amamantamiento con la propia cría/ madre/ 2h.

Número de episodios de amamantamiento con crías extrañas/ madre/ 2h.

Número total de episodios de amamantamiento/ madre/2h.

Duración total de los episodios de amamantamiento/ madre/ 2h.

Duración promedio de los episodios de amamantamiento.

Por cada madre, las frecuencias de amamantamiento por su propia cría y por las extrañas por el total en los dos meses de estudio.

Experimento 2 (estudio en cabras)

En ambos grupos, las observaciones se realizaron a los días 7, 14, 21, 29, 42 y 56 días postparto. La hora de inicio de las observaciones fue aleatorizada en ambos grupos de las 8:00 a las 10:00 h del día y las observaciones se realizaron desde un pasillo que estaba inmediato a los corrales individuales, en los cuales se alojaba a una madre y su (s) cría(s). El procedimiento fue similar al experimento anterior con la diferencia de que en este estudio las conductas se registraron en papel. Se registró la hora del día y el tiempo durante el cual las

madres amamantaron a sus crías. Con esos datos y utilizando los criterios del estudio anterior y lo usados por Delgadillo *et al.* (1997) se calcularon las diferentes variables de la conducta de amamantamiento en las madres y en las crías.

Variables evaluadas

Conducta de amamantamiento

En las madres:

Frecuencia de episodios de amamantamiento/2 h

Duración promedio por amamantamiento/2 h

Tiempo total de amamantamiento/2 h

Porcentaje de rechazos al amamantamiento.

En las crías:

Frecuencia de amamantamiento/2 h

Tiempo total de amamantamiento/2 h

Duración promedio por amamantamiento/2 h

Variables fisiológicas.

Producción de leche al inicio, mitad y final del estudio (días 7, 28 y 56 de lactancia; experimento 1): En ambos grupos, se determinó la producción de leche durante un período de 24 horas mediante el método de la diferencia de peso de la cría antes y después de amamantamientos controlados (Riordeau *et al.*, 1960). Después de cada amamantamiento controlado se aplicó una ordeña manual para extraer la leche residual. La producción total en 24 horas fue calculada sumando las cantidades obtenidas durante las mediciones de las 10:00, 12:00, 14:00, 16:00 y 18:00 del día y a las 8:00 horas de la mañana siguiente.

Producción de leche de las cabras al día 30 de lactancia (experimento 2)

En el segundo experimento, la producción de leche se estimó en todas las cabras por un período de 24 horas solo a los 30 días de lactancia. El método fue el de la diferencia de peso de la cría antes y después de amamantarse, descrito en el experimento anterior (Ricoardeau *et al.*, 1960). El procedimiento fue el siguiente: a todas las cabras se les retiró la (s) cría (s) y se les vació la ubre antes de iniciar la medición a las 18:00 h, del día previo. Al día siguiente se permitieron tres amamantamientos controlados de 5 min de duración a las 8:00, 13:00 y 18:00 h. Después de cada amamantamiento se administraron en la vena yugular de la cabra dos UI de oxitocina para obtener la fracción de leche alveolar residual y la cantidad obtenida se adicionó a cada medición correspondiente. Para calcular el total producido en 24 horas / cabra se sumaron las ganancias de peso en cada amamantamiento de su (s) cría (s) y lo obtenido en cada ordeña respectiva. Los detalles del procedimiento son mostrados en la tabla 2.

Crecimiento de las crías (experimentos 1 y 2)

En ambos experimentos, las crías fueron pesadas al nacimiento y después cada semana hasta los dos meses de vida. Para ello, se utilizó una báscula electrónica con una precisión de 10 gramos.

Análisis estadísticos

Los datos de la conducta de amamantamiento del experimento en ovejas fueron analizados mediante procedimientos estadísticos no paramétricos y fueron expresados en medianas y rangos intercuartiles (IQR). En el experimento en cabras, como las variables de la conducta de amamantamiento no tuvieron una distribución normal, se les realizó una aproximación mediante transformación a logaritmos. Así, cada variable fue analizada utilizando un ANOVA para medidas repetidas a un factor (grupo). El anterior análisis también se utilizó para analizar los pesos de las crías en ambos experimentos. La producción de leche fue comparada entre

grupos mediante una prueba de *t* de student. Los resultados de esta variable son expresados en promedio \pm sem.

Tabla 2. Método para la estimación de la producción de leche en las cabras (experimento 2).

Hora del día			
1800	0800	1300	1800
Amamantamiento y separación de los cabritos Vaciado de la ubre + 2 UI de oxitocina y ordeña a mano	Amamantamiento y pesaje + 2 UI de oxitocina y ordeña a mano ↓		
Mediciones usadas para estimar la producción de leche			

Resultados

Experimento 1

Como los cambios en las variables del primer experimento a través del tiempo fueron progresivos o ausentes, se describen solo en las semanas 1, 4 y 8 de lactancia (tabla3).

Frecuencia y duración de los episodios de amamantamiento

La frecuencia de los episodios de amamantamiento /madre /2 h con la cría propia fue significativamente mayor en las ovejas intactas que en las anósmicas (tabla 3). Por el contrario, esta frecuencia con los ajenos fue significativamente menor en las ovejas intactas (tabla 3), mientras que no se encontró un cambio a través del tiempo de esta variable en ambos grupos ($p \geq 0.35$). La tabla 3 también muestra que el número total de episodios de amamantamiento /madre/2 h, sumando las frecuencias de sus propias crías y las de las crías extrañas no difirió significativamente entre grupos ($p > 0.87$; Mann-Whitney). Los resultados fueron similares para la duración total de amamantamiento y para la duración promedio por episodio de amamantamiento ($p > 0.225$; MANOVA).

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

Distribución del número total de episodios de amamantamientos entre corderos propios y ajenos.

En total, se registraron 287 amamantamientos por los corderos en el grupo OI y 267 en el grupo OA. Esto no difirió de una distribución al azar entre los dos grupos ($X^2= 0.72$, 1df, $p=0.40$). En el grupo OI, 278 amamantamientos del total de 287 fueron realizados por las crías propias, comparado con solo 59 de los 267 en el grupo OA ($X^2= 283$, $p<0.001$). Sin embargo, en el grupo anósmico, cuando se considera la hipótesis nula de una distribución al azar de los amamantamientos entre los 10 corderos del grupo (267 de 10 o aproximadamente 27 amamantamientos/ cordero), la frecuencia observada para la cría propia fue significativamente más elevada que la esperada en caso de una elección al azar ($X^2 14.9$, 1 df, $p<0.001$).

Producción de leche al día 7, 29 y 56 de lactancia y crecimiento de las crías

La producción promedio de leche durante un período de 24 h no fue diferente entre las ovejas intactas y anósmicas al día 7 (1.7 ± 0.3 kg en ambos), ni al día 29 (1.6 ± 0.3 kg y 1.6 ± 0.4 kg, respectivamente) de lactancia, ni al final del estudio (1.1 ± 0.1 kg y 1.2 ± 0.2 kg, respectivamente).

El peso de las crías no fue afectado debido a la anosmia en las madres, (ANOVA; $p=0.72$). Así, el peso de los corderos en el grupo OI y en el grupo OA fueron 7.7 ± 0.45 kg vs 7.4 ± 0.3 kg, 14.3 ± 0.6 kg vs 14.8 ± 0.5 kg y 22.7 ± 0.9 kg vs $22.4 \pm .05$ kg a los días 7, 28, y 56 postparto, respectivamente (efecto tiempo, ANOVA, $p < 0.0001$)

Tabla 3. Frecuencia y duración de los episodios de amamantamiento en ovejas intactas (OI) y en anósmicas (OA) durante las primeras 8 semanas de lactancia.

Conductas del amamantamiento	Grupo	Semana de lactancia		
		1	4	8
Frecuencia con sus crías (mediana, IQR)	OI	4, 3-7 **	3, 2-4 **	2, 1-3 **
	OA	1, 0-2	0, 0-1	0, 0-1
Frecuencia Con crías ajenas (mediana, IQR)	OI	0, 0-0 **	0, 0-0 **	0, 0-0 **
	OA	3, 2-3	3, 1-4	2, 2-3
Frecuencia total (propia + ajenas) (mediana, IQR)	OI	4, 3-7 n.s.	3, 2-4 n.s.	2, 1-3 n.s.
	OA	3, 1-6	4, 2-4	2, 2-4
Duración Total/ 2-h /madre (s; mean ± sem)	OI	122.2 ± 25.3 n.s.	43.6 ± 3.4 n.s.	33.1 ± 6.2 n.s.
	OA	132.5 ± 41.2	53.7 ± 11.8	42.0 ± 5.9
Duración promedio /amamantamiento/madre (s; mean ± sem)	OI	24.0 ± 4.0 n.s.	18.6 ± 3.5 n.s.	14.7 ± 1.0 n.s.
	OA	42.9 ± 16.6	17.6 ± 1.7	14.5 ± 0.8
Duración total en madres intactas (s; mean ± sem)	Cría propia	122.2 ± 25.3 **	43.6 ± 3.4 **	33.1 ± 6.2 **
	Cría ajena	0	0	0
Duración promedio en madres intactas (s; mean ± sem)	Cría propia	24.0 ± 4.0	18.6 ± 3.5	14.7 ± 1.0
	Cría ajena	-----	-----	-----
Duración total en madres anósmicas (s; mean ± sem)	Cría propia p	45.5 ± 21.5 **	24.0 ± 2.4 **	12.7 ± 1.7 **
	Cría ajena	127.0 ± 33.7	55.0 ± 10.4	38.1 ± 5.2
Duración promedio en madres anósmicas (s; mean ± sem)	Cría propia p	20.8 ± 4.1 n.s.	20.3 ± 2.65 n.s.	12.3 ± 0.3 n.s.
	Cría ajena	46.0 ± 18.3	17.6 ± 1.8	14.8 ± 1.1

I vs A: ** Mann-Whitney ($p < 0.001$); n.s. = no significativo ($p > 0.05$). No se encontraron diferencias en la duración promedio por episodio de amamantamiento con sus crías entre intactas y anósmicas.

Corderos propios vs. Corderos ajenos: ** Wilcoxon, $p < 0.001$; n.s. = no significativo.

Experimento 2

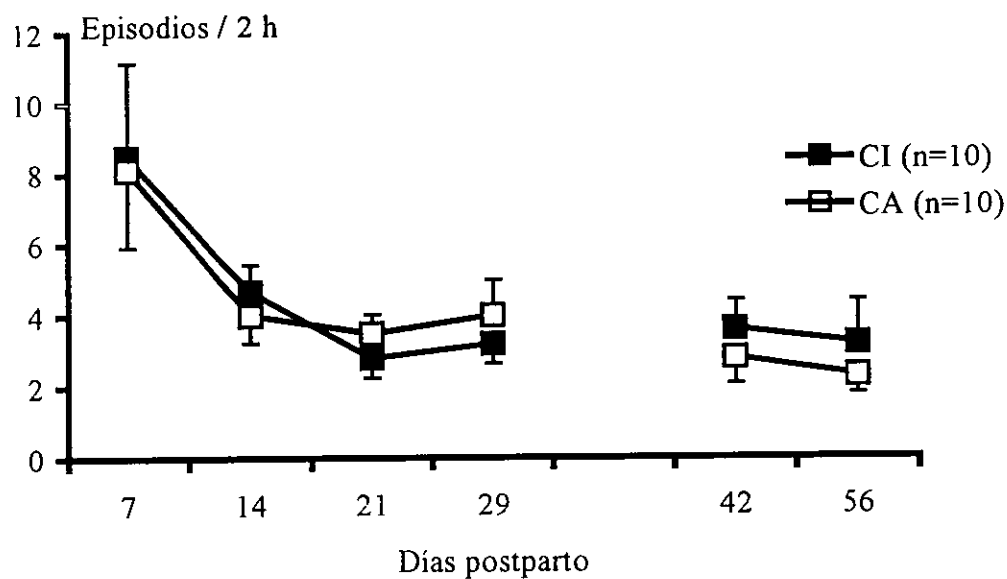
Frecuencia de episodios de amamantamiento

Del día 7 al 29 postparto, el MANOVA para medidas repetidas a un factor solo mostró un efecto significativo del tiempo ($p < 0.01$), sin embargo, no reveló un efecto del grupo ($p = 0.815$), ni tampoco una interacción tiempo*grupo ($p = 0.668$). En efecto la frecuencia registrada al día 7 postparto disminuyó de 8.5 ± 2.7 y 8.1 ± 2.2 amamantamientos/2 h en los grupos de CI y CA, respectivamente a 3.2 ± 1.2 y 2.3 ± 0.5 amamantamientos/2 h al día 56 de lactancia. De hecho, del día 29 al 56 postparto este mismo análisis no reveló efecto alguno ni del factor tiempo ($p = 0.217$), ni del grupo ($p = 0.771$) ni tampoco una interacción entre estos dos factores ($p = 0.638$). La evolución de la frecuencia aparece en la figura 12 (A).

Tiempo total de amamantamiento

El análisis de esta variable indicó un efecto general del tiempo del día 7 al 29 de lactancia ($p < 0.01$). Sin embargo, posiblemente este cambio a través del tiempo es debido a que en el grupo de CA existió una disminución significativa del día 7 al 29 postparto ($p < 0.05$) mientras que en las CI no existió tal disminución (figura 12 B). En efecto, en las CI los valores registrados en la primera y octava semana de lactancia fueron de 3.2 ± 0.9 min y 1.7 ± 0.9 min, respectivamente. Mientras que en las CA, estos valores fueron de 4.8 ± 1.6 min y 1.1 ± 0.3 min, respectivamente. Sin embargo, del día 29 al 56 postparto este tiempo no evolucionó en ambos grupos ($p = 0.328$ y $p = 0.134$, en los grupos de CI y CA, respectivamente). Asimismo, el análisis general del día 7 al 29 de lactancia no indicó un efecto significativo del grupo ($p = 0.706$), ni de la interacción tiempo*grupo ($p = 0.730$). Lo mismo resultó del análisis del día 29 al 56 postparto.

A)



B)

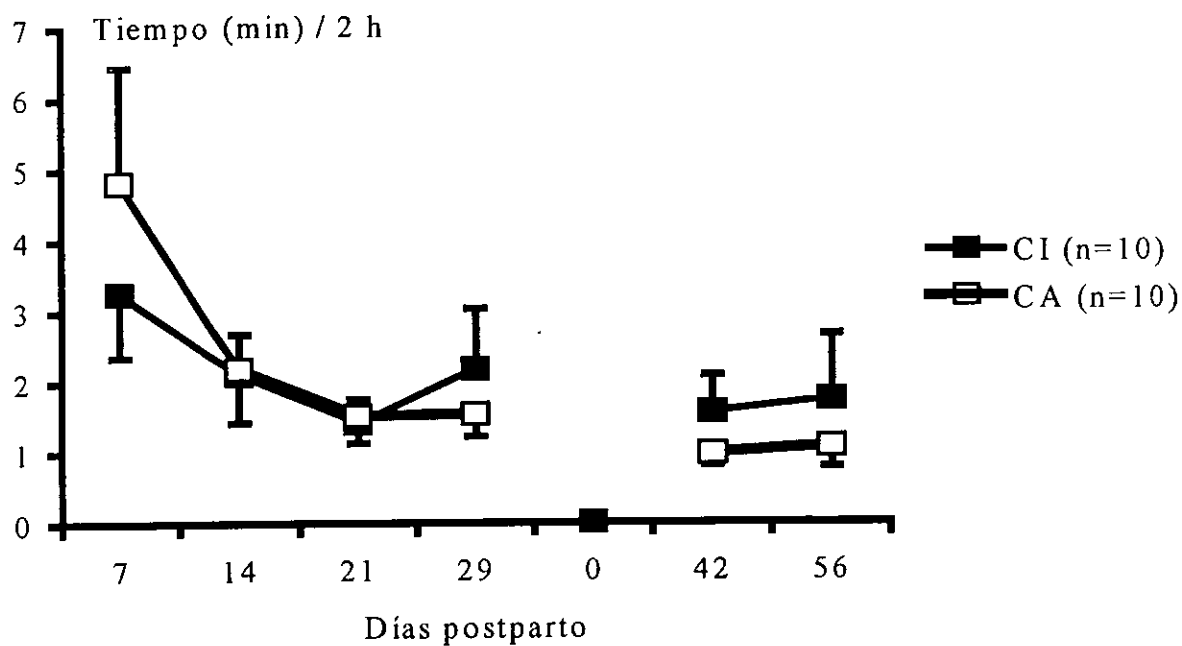


Figura 12. Evolución promedio (\pm SEM) de la frecuencia de amamantamiento (A) y del tiempo total de amamantamiento (B) durante las primeras ocho semanas de lactancia en las cabras del grupo intacto y anósmico (CI y CA, respectivamente)

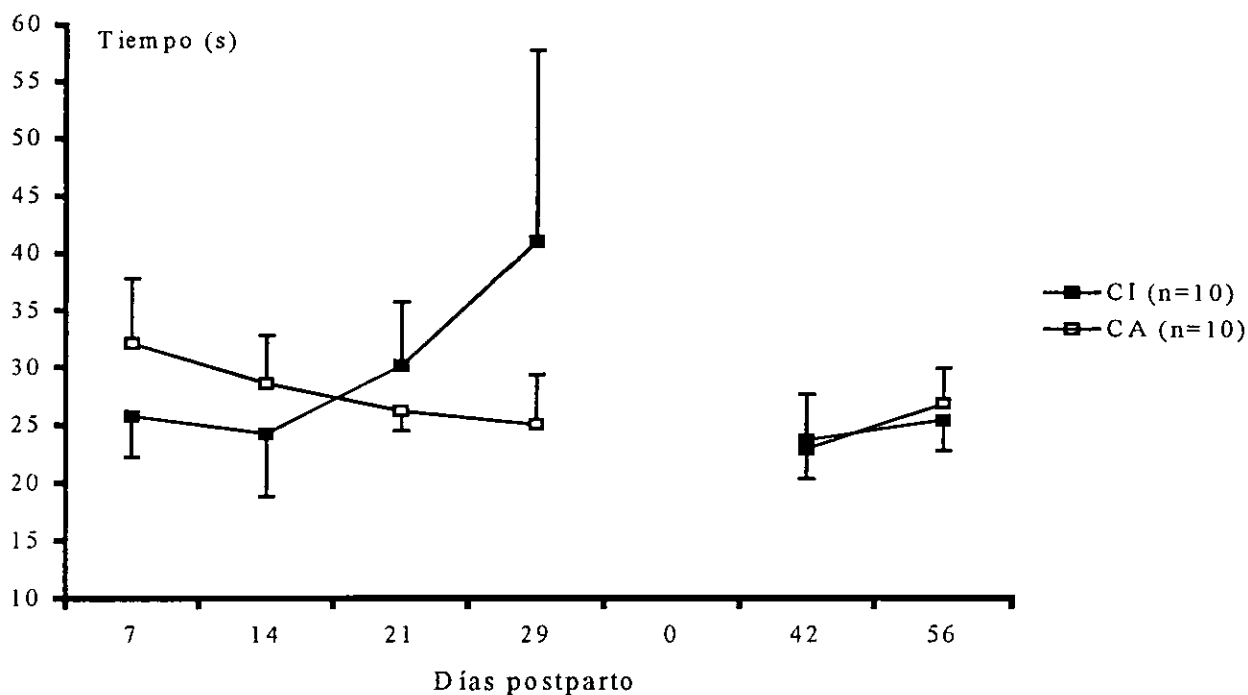


Figura 13. Evolución de la duración promedio (\pm SEM) por amamantamiento durante las primeras ocho semanas de lactancia en las cabras del CI y del CA.

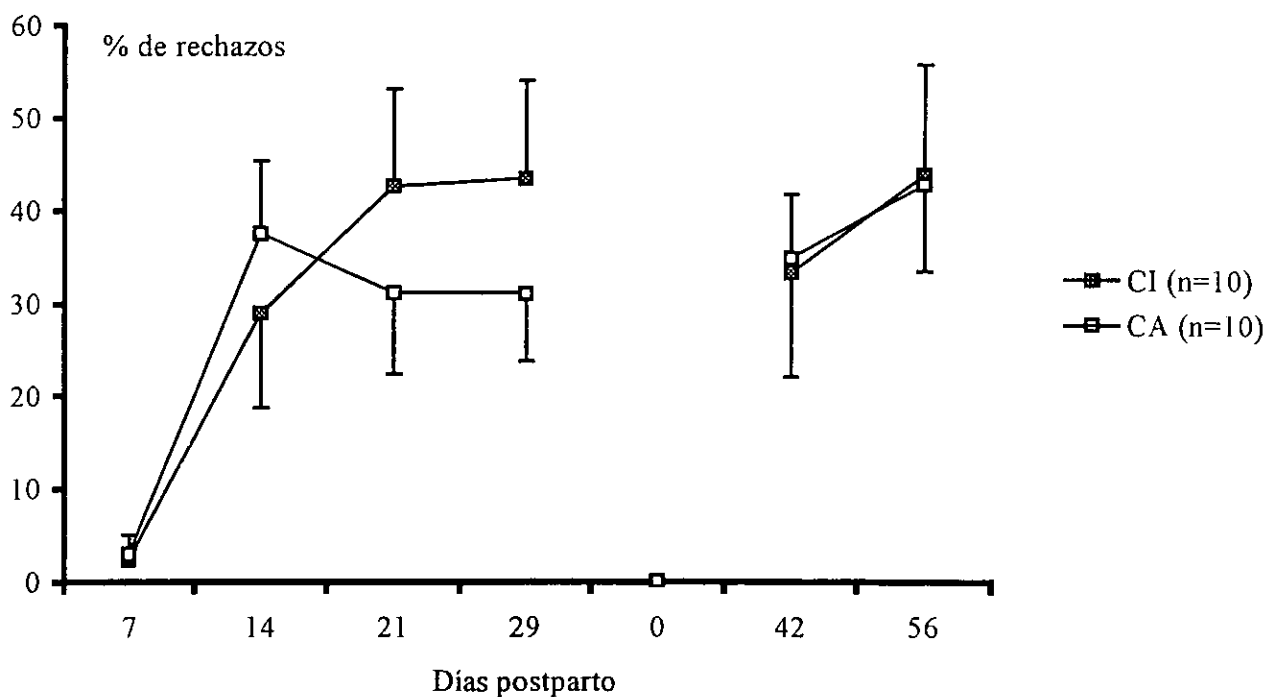


Figura 14. Evolución promedio (\pm SEM) del porcentaje de rechazos en las cabras intactas (CI) y anósmicas (CA) durante las primeras ocho semanas de lactancia.

Duración promedio por amamantamiento

El MANOVA para medidas repetidas indicó de manera general un efecto significativo solo para el factor tiempo ($p < 0.01$). Este efecto significativo fue debido a cambios entre los días 7 y 29 postparto ($p < 0.01$). El tiempo registrado al día 7 postparto en las CI y las CA pasó de 25.7 ± 3.5 y 32.1 ± 5.7 s, respectivamente a 41.0 ± 17.0 y 25.0 ± 4.3 s, respectivamente en el día 29 de lactancia. Entre los días 29 y 56 no hubo cambios significativos, de manera general no hubo efectos del grupo o interacciones significativas grupo * tiempo. La evolución de este tiempo durante la lactancia aparece en la figura 13. En esta, se puede observar que existe un incremento de este tiempo en las CI el día 29 de lactancia, sin embargo ello se debe a que una sola cabra de ese grupo presentó un tiempo de 190 s., a pesar de ello, la diferencia no fue significativa.

Porcentaje de rechazos al amamantamiento.

Durante el tiempo de estudio el porcentaje de rechazos al amamantamiento no difirió entre grupos ($p > 0.05$). Así, en las CI el porcentaje de rechazos se incrementó de 2.3 ± 1.2 % en la primera semana a 43.7 ± 11.9 % en la octava semana de lactancia. Asimismo, en las CA estos valores se incrementaron de 2.9 ± 2.1 % a 42.7 ± 9.3 % de la primera a la octava semana de lactancia, respectivamente (figura 14).

Conducta de amamantamiento de los cabritos

Las variables de esta conducta se muestran en la siguiente tabla 4. En ella se puede observar que no existieron diferencias significativas de las diferentes variables entre las crías de cabras intactas y anósmicas.

Tabla 4. Evolución de las variables de la conducta de amamantamiento de los cabritos durante el primer mes de vida (promedio \pm SEM).

Crías del grupo CI	Días postparto				Efecto del tiempo
	7	14	21	28	
Frecuencia de amamantamiento / 2-h	5.4 \pm 1.5	3.5 \pm 0.7	2.7 \pm 0.5	3.3 \pm 0.4	n.s.
Tiempo total / 2-h (min)	2.1 \pm 0.5	1.6 \pm 0.4	1.2 \pm 0.2	2.0 \pm 0.5	n.s.
Duración promedio por amamantamiento (s)	24.4 \pm 3.1	32.2 \pm 10.5	25.7 \pm 3.5	39.0 \pm 10.6	n.s.
	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
Crías del grupo CA					
Frecuencia de amamantamiento / 2-h	6.1 \pm 1.4	3.4 \pm 0.5	3.6 \pm 0.4	4.1 \pm 0.7	n.s.
Tiempo total / 2-h (min)	3.4 \pm 0.9	1.7 \pm 0.3	1.5 \pm 0.2	1.6 \pm 0.2	n.s.
Duración promedio por amamantamiento (s)	28.3 \pm 4.8	29.3 \pm 2.9	25.6 \pm 1.8	26.0 \pm 3.2	n.s.

n.s. = diferencia no significativa entre grupos ($p > 0.05$)

Producción de leche a los 30 días de lactancia

La producción promedio de leche en un período de 24 horas en las CI fue de 1.7 ± 0.2 kg y en las CA fue de 1.9 ± 0.3 kg, no existiendo diferencias significativas entre los dos grupos ($p > 0.05$; prueba de *t*).

Crecimiento de las crías

En la siguiente figura 15 se puede apreciar que el peso de las crías no difirió entre grupos. En efecto el ANOVA solo mostró un efecto general del tiempo ($p < 0.001$). Sin embargo, no reveló un efecto significativo de grupo ($p > 0.05$), ni tampoco una interacción tiempo*grupo ($p > 0.05$).

Así, los pesos al nacimiento de las crías hijas de las CI y CA se incrementaron de 2.6 ± 0.2 kg y 2.5 ± 0.1 kg, a 10.0 ± 0.6 kg y 9.2 ± 0.4 kg, respectivamente en la octava semana de vida.

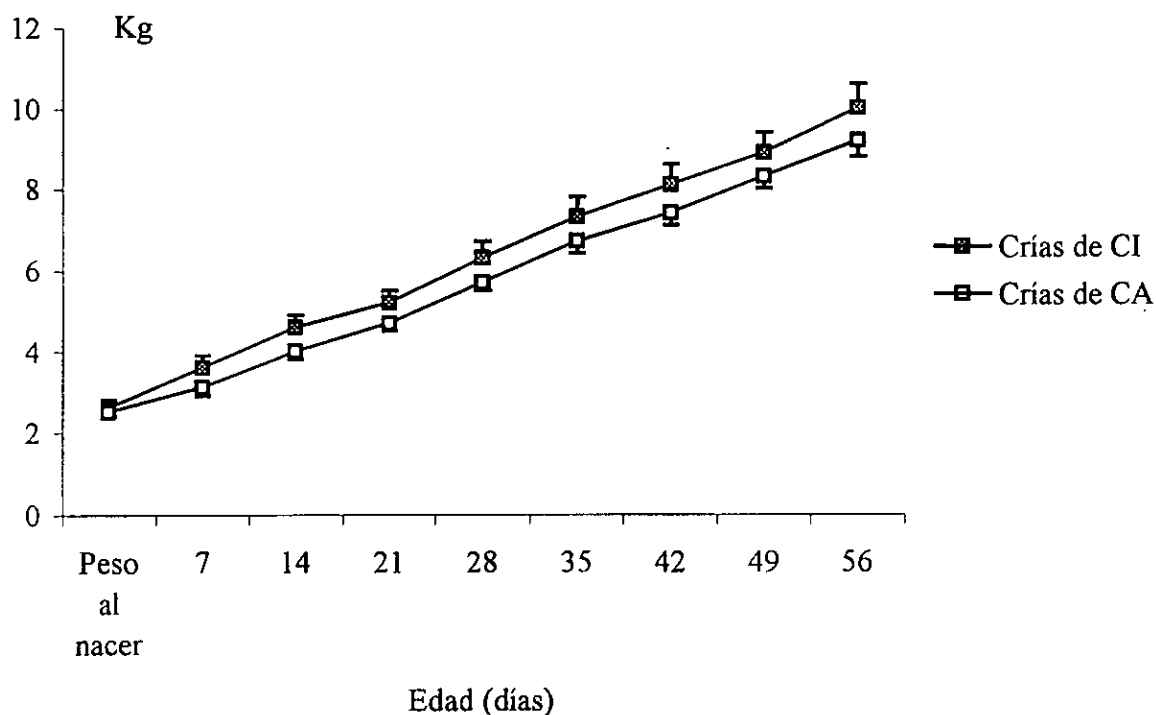


Figura 15. Evolución promedio (\pm SEM) del peso de las crías de cabras intactas (CI) y anósmicas (CA) durante las primeras ocho semanas de vida ($n=17$, en ambos grupos).

Discusión

Los resultados de estos experimentos, indican que la ausencia del olfato materno no afecta significativamente las características generales de la conducta de amamantamiento de las madres en cabras y ovejas, excepto en cuanto a su selectividad (la cual se evaluó solamente en las ovejas). Por consiguiente, estos resultados no apoyan la hipótesis de que la falta de vínculo selectivo pueda ser asociado a un menor grado de motivación materna. En efecto, en ambas especies, la comparación de las variables de la conducta espontánea de amamantamiento de las madres no difirió significativamente entre intactas y anósmicas durante los primeros dos meses postparto. Asimismo, esta deficiencia olfatoria no influyó sobre la capacidad de producción de leche ni sobre el desarrollo de las crías

Estos resultados no concuerdan con los obtenidos anteriormente en ovejas por Poindron (1976b), quién determinó que la proporción de intentos exitosos al amamantamiento fue significativamente menor en las ovejas anósmicas, que en las intactas, resultando en un menor número de amamantamientos. Tal vez, esta diferencia puede ser debida en parte a que en este último estudio, la anosmia se indujo mediante la ablación de los bulbos olfatorios, mientras que en los presentes experimentos fue mediante la irrigación intranasal de $ZnSO_4$ de la mucosa olfatoria. Al respecto, en ratas se conoce que la anosmia tiene efectos distintos según el método empleado para realizarla. Por ejemplo, si se realiza antes del parto mediante una bulbectomía, produce efectos secundarios tales que pueden llevar inclusive al infanticidio en ratas nulíparas (Stern, 1989); lo cual ha sido atribuido a daños secundarios al realizar la bulbectomía independientes a la pérdida de la percepción olfativa (Alberts, 1974; Leonard y Tiute, 1981). En cambio, cuando la anosmia se realiza mediante la destrucción de la mucosa olfatoria, se previenen dichos efectos. Es por ello que posiblemente, estos resultados no concuerdan con lo encontrado en roedores, en los que la anosmia indujo efectos muy adversos sobre la conducta materna, los cuales se reflejaron en el bajo peso de las crías (Kolunje y Stern, 1995). Posiblemente, al igual que en animales de laboratorio, en las ovejas, los efectos también son distintos según el método empleado para realizar la anosmia. Sin embargo, tanto en la oveja como en la cabra, la anosmia inducida antes del parto por cualquiera de ambos métodos elimina el comportamiento selectivo de la madre (Poindron 1976ab; Poindron *et al.*, 1993).

Los resultados del presente trabajo también difieren de lo reportado por Poindron y Le Neindre (1980), sobre los efectos de suprimir algunas señales sensoriales provenientes de las crías y de la separación completa de las mismas durante el período sensible. En efecto, en ovejas parturientas, la sola privación de las señales olfativas conduce a perturbaciones en el

despliegue de la conducta materna similar a cuando la cría es retirada definitivamente. En cambio, cuando se les suprime de otras señales sensoriales emanadas por la cría (como las visuales, auditivas, y táctiles), la responsividad maternal no es afectada drásticamente. Por ello, se proponía que en las cabras y en ovejas anósmicas, la conducta maternal durante la lactancia podría afectarse de manera adversa, pero los resultados obtenidos en este estudio no apoyan esta hipótesis. Sin embargo, es conocido que la anosmia periférica no parece tener consecuencias adversas sobre la manifestación inicial de la conducta materna en ovejas, excepto sobre la supresión de la conducta selectiva (Lévy *et al.*, 1995). Asimismo, esos resultados encontrados en ovejas por Poindron y sus colaboradores (Poindron 1976 b; Lévy *et al.*, 1995) difieren de lo recientemente reportado en esta especie por Boot y Katz (2000), quienes indican que la anosmia realizada mediante la irrigación de $ZnSO_4$ no impide la selectividad maternal, mientras que la cauterización del órgano vomeronasal si bloquea la selectividad. Las razones de estas discrepancias no se conocen, sin embargo puede deberse a la diferente metodología usada para realizar la anosmia.

En referencia a la evolución de los valores de la frecuencia de los episodios de amamantamiento en ambos grupos de cabras del experimento 2, esta es similar a lo reportado en las cabras Criollas del Norte de México (Aguilar *et al.*, 1996; Delgadillo *et al.*, 1997). Sin embargo, los valores obtenidos en el presente trabajo durante las primeras seis semanas de lactancia son menores a los obtenidos en las cabras Tokara del Japón, las cuales también fueron alojadas en corrales individuales (Bungo *et al.*, 1998). La diferencia en los valores puede ser principalmente debida al tamaño de camada en cada estudio (Resultados del primer estudio en cabras; ver también Ewbank, 1964, 1967). En efecto, mientras que en el presente trabajo el 70 % de las cabras en cada grupo amamantaron a crías gemelares, en el estudio de Bungo (Bungo *et al.*, 1998) todos los animales amamantaron solo a una cría. No obstante, los

resultados del primer estudio (Fase I) demuestran que existe una mayor actividad de amamantamiento en cabras con dos crías que en cabras con cría sencilla. Por ello, tal vez la diferencia entre los valores obtenidos por Bungo *et al.* (1998) y los reportados en este estudio obedece mas bien a diferencias en la producción láctea entre razas como se sugiere en bovinos (Odde *et al.*,1985; Day *et al.*, 1987). De manera general, los valores de las variables de la conducta de amamantamiento en ovejas y cabras durante las primeras semanas de lactancia se asemejan a las reportada anteriormente en la especie ovina por distintos autores (Ewbank, 1967; Fletcher, 1971; Gordon y Siegman, 1991).

Sin embargo, de los resultados del experimento en ovejas, se puede resaltar que las madres no muestran una clara selectividad durante la succión dentro de las primeras 8 semanas de lactancia, pese al hecho de que ellas son capaces de reconocer su cría mediante el uso de otros sentidos (Ferreira *et al.*,2000). En efecto, mientras que las madres intactas solo aceptaron a su cría, las anósmicas aceptaron a crías ajenas al amamantamiento y no hay indicaciones para sugerir que la conducta de las madres anósmicas hacia sus propias crías fue diferente de la que mostraron cuando succionaban crías extrañas.

Los resultados del experimento en ovejas, parecen diferir también de los reportados por Ferreira *et al.* (2000), quienes encontraron que a un mes postparto las madres tienden a mostrar una capacidad discriminatoria en una situación de prueba de selectividad. Sin embargo, aunque en nuestro experimento no existió una clara selectividad maternal, existió cierto grado de relación preferencial entre las madres anósmicas y sus crías. Finalmente, y al menos por 2 razones, no es claro si la relación preferencial fue debida a la madre o a las crías. Primero, las madres anósmicas son capaces de reconocer su cría usando señales auditorias (Ferreira *et al.*,2000). Segundo, los corderos hijos de madres anósmicas (no selectivas) tienen dificultades para reconocer a su madre, aunque sí lo pueden hacer a un mes de edad (Terrazas,

1999). Como el experimento en ovejas no fue diseñado para investigar el reconocimiento mutuo madre-cría en ovejas anósmicas, es difícil concluir sobre los papeles respectivos de la madre y de la cría en el mantenimiento de una relación preferencial. Sin embargo, el hecho que las madres anósmicas no mostraron signos conductuales de mejor aceptación de sus propias crías podría sugerir que la frecuencia de succión más alta que al azar de los cabritos propios en este grupo, pueda ser debida a una preferencia por parte de los cabritos más que por parte de su madre.

En el presente estudio, la producción de leche tanto en ovejas como en cabras, no fue afectada debido a la anosmia. Lo anterior es diferente a lo reportado en ratas, en las que se ha sugerido que la anosmia puede tener interferencias sobre la fisiología de la lactancia y por ello, las crías hijas de madres anósmicas presentan un crecimiento disminuido y existe una mortalidad alta de ellas durante la lactancia (Kolunie y Stern, 1995). Estos investigadores sugirieron que como las señales olfatorias son la primera información sensorial que median la liberación exteroceptiva de prolactina (Mena y Grosvenor, 1971) y de corticosterona (Zarrow *et al.*, 1972), su bloqueo posiblemente influya sobre la secreción de leche. Además sugirieron que como las neuronas del núcleo supraóptico reciben aferentes directas del bulbo olfatorio principal, este sentido influencia la anatomía y fisiología de este núcleo (Smithson *et al.*, 1989), teniendo efectos posibles sobre la liberación de oxitocina (un efecto observado en las cabras del estudio 5 en la fase II de la presente tesis), y en consecuencia sobre la eyección de la leche. Sin embargo, se desconocen los mecanismos precisos por los cuales la deficiencia olfatoria de la madre afecta la fisiología de la lactancia.

La ausencia de un efecto de la anosmia sobre la producción de leche de las madres difiere de lo reportado en vacas. En efecto en esta especie la anosmia indujo desde una disminución leve hasta un cambio negativo en la producción de leche aproximadamente al mes de lactancia

(Griffith y Williams, 1996). Sin embargo, en este estudio el bloqueo de las señales visuales provenientes del becerro también tuvo un efecto importante. De manera que cuando se bloquean simultáneamente ambas señales (olfatorias y visuales), el cambio negativo en la producción de leche es un poco más acentuado. En rumiantes, el vaciamiento glandular es un mecanismo importante para el proceso de síntesis de leche. De tal modo que el frecuente vaciamiento reduce los efectos negativos de la presión intramamaria (Linzell y Peaker, 1971; Wilde y Peaker, 1990). En los experimentos del presente estudio, como la frecuencia de succión no fue distinta entre animales intactos y anósmicos, se puede pensar que esta actividad posiblemente favoreció un nivel normal de producción.

En relación con el crecimiento de las crías, se pudo comprobar que la anosmia tampoco influye de manera importante sobre esta variable. Es probable que como la producción de leche y la frecuencia de episodios de amamantamiento en las madres anósmicas no fue modificada, entonces asimismo el crecimiento de las crías no fue alterado. El peso de los cabritos durante los primeros dos meses de lactancia es similar a la reportada en las cabras Criollas del norte de México (Hernández, 1996). Sin embargo, los pesos registrados en el presente son menores a los encontrados en el primer estudio. Esta diferencia puede explicarse debido a que en el presente trabajo, al menos un 50 % de las madres eran nulíparas, y por ello las crías son de menor peso.

Conclusiones

Los resultados obtenidos en el experimento en ovejas, nos permiten concluir que la anosmia preparto impide la formación de una clara conducta selectiva hasta las primeras 8 semanas de lactancia, aunque se desarrolla una relación preferencial madre-cría.

La actividad espontánea de amamantamiento durante los primeros dos meses de lactación en ovejas y cabras, no es afectada negativamente debido al bloqueo de la percepción de señales olfatorias en las madres.

Asimismo, en ambas especies, la deficiencia olfatoria no influyó sobre el nivel de producción de leche, al menos durante los primeros dos meses de lactancia.

Es probable que como ni la conducta de amamantamiento de las madres o de la (s) cría (s), ni la producción de leche fue afectada, por consiguiente tampoco se observaron diferencias significativas entre los pesos de las crías de ambos grupos (intactas vs anósmicas).

Según los resultados obtenidos en la especie ovina, el papel del olfato es probablemente más importante en los mecanismos de reconocimiento de la madre por su cría, aunque en ausencia de esas señales las madres pueden reconocer a sus crías ya desde las 8 horas de vida (Terrazas *et al.*, 1999).

Estudio 3

Efectos de restringir el período diario de contacto madre-cría en cabras sobre la producción de leche y el crecimiento de las crías.

Introducción

En los países templados, los sistemas de producción caprina se enfocan principalmente hacia la producción de leche y la cría es considerada como un producto secundario. Por ello, la cría es destetada desde el nacimiento y criada artificialmente. Lo anterior permite al productor aprovechar toda la producción de leche de la madre. Al contrario, en los países tropicales y subtropicales, las crías son amamantadas por su madre y muchos de los sistemas de producción se enfocan a la producción de carne (FAO, 1982; Ferrando y Boza, 1990). Además, en algunos sistemas las cabras son usadas como una especie de doble propósito, donde las crías permanecen con sus madres y se amamantan libremente durante los primeros 30 a 60 días de lactancia, después de lo cual las crías son vendidas y la cabra es ordeñada por otros cuatro meses (Peters y Horst, 1981; Cepeda, 1993). Este es el caso que existe en algunos lugares de México, en donde la carne de cabrito es producida en asociación con la producción lechera. La cantidad de leche colectada puede representar en algunos casos una importante fuente de alimento para la comunidad y en otros, constituye la principal fuente de ingresos de los productores (Hoyos *et al.*, 1991). Sin embargo, durante los primeros 30 a 60 días de lactancia, debido a la crianza de las crías, existe una indisponibilidad de la leche para su venta o consumo.

En la vaca, la cual presenta una baja frecuencia de amamantamiento (Nicol y Sharafelding, 1975), se ha demostrado que la restricción del período de interacción madre-cría diaria durante la lactancia no afecta significativamente la tasa de crecimiento de sus becerros (Pérez, 1992; SanJuan *et al.*, 1993; Rodríguez y Segura, 1995; Das *et al.*, 1999). Resultados similares se han encontrado en la oveja, a pesar de que en esta especie existe un elevado ritmo de amamantamiento (Ewbank, 1964, 1967; Folch y Blasco, 1987; Mandiky *et al.*, 1990). Actualmente esta posibilidad no ha sido investigada en las cabras, a pesar de las características lecheras en esta especie, probablemente debido al buen valor comercial y nutricional de la carne de cabrito en los países en desarrollo. La restricción en el período diario de contacto madre-cría en esta especie, desde la primera semana de lactancia, pudiera ser fácil de imponerse, pues como se describe en el estudio 1 los períodos de succión no son muy frecuentes en la primera semana de vida del cabrito y la frecuencia global de dicha conducta disminuye significativamente en este mismo período.

Objetivo

El objetivo del presente estudio fue investigar si el amamantamiento restringido pudiese ser impuesto desde los primeros días de lactancia en combinación con una ordeña, sin afectar la tasa de crecimiento de las crías. Esto fue comparado con animales que tuvieron libre acceso con sus crías y que no fueron ordeñados y con animales a los que se les separó definitivamente de sus crías y que fueron ordeñados, lo cual es realizado usado en algunos rebaños en los países en desarrollo para la producción de leche.

Hipótesis

Tomando en cuenta que las crías en esta especie muestran una conducta escondediza durante los primeros 4 a 7 días de vida, entonces, es probable que la restricción del período diario de contacto madre-cría pueda aplicarse en esta especie para obtener una cantidad de leche

adicional por ordeña desde la primera semana de lactancia, sin afectar el crecimiento de las crías.

Material y Métodos

Lugar del estudio

El estudio se realizó durante los meses de Enero a Abril de 1997 en la Facultad de Estudios Superiores de Cuautitlán (FESC-UNAM) en el Municipio de Cuautitlán Izcalli en el estado de México (latitud 19 ° norte; 2240 msnm); la temperatura promedio durante el estudio varió de 12 a 16° C.

Animales y tratamientos

Se utilizaron 45 Cabras de raza Alpina que fueron mantenidas bajo un manejo intensivo (5 m² / madre) en cuatro corrales (uno por cada grupo), los cuales estaban provistos con sombreadores. Los animales fueron alimentados dos veces por día con heno de alfalfa y concentrado comercial (Generaleche, Purina México; con un contenido de 14 % de proteína cruda). La cantidad administrada fue con base a su estado fisiológico. El agua y las sales minerales estuvieron disponibles a libre acceso. Al parto, las crías fueron pesadas e identificadas con un arete de plástico. En este tiempo, las madres fueron alojadas a uno de los cuatro tratamientos:

Grupo control (C): 3 cabras primíparas y 10 múltiparas (prolificidad promedio \pm sem 1.7 \pm 0.2) estuvieron en contacto libre con sus crías. En este grupo, 5 cabras amamantaron a 1 cabrito, 7 cabras a dos cabritos y una cabra amamantó a tres cabritos. La fecha promedio del parto en este grupo fue el 23 de enero de 1997 \pm 7.3 días (promedio \pm sem)

Grupo 10 horas (10h): 3 cabras primíparas y 8 mutíparas (prolificidad 1.6 \pm 0.2), tenían diario acceso a sus crías de las 10:00 hrs a las 20:00 hrs. Además, a las cabras de este grupo se les realizó una ordeña mecánica por día en las mañanas a las 8:00 hrs. En este lote 5 cabras

amamantaron a una cría, 5 cabras a dos crías y una cabra amamantó a tres crías. La fecha promedio del parto en las hembras de este grupo fue el 30 de enero de 1997 \pm 7.5 días.

Grupo 5 horas (5h): 3 cabras primíparas y 7 multíparas (prolificidad 1.7 \pm 0.2) tenían diario acceso a sus crías de las 15:00 hrs a las 20:00 hrs. También a las cabras de este grupo se les realizó una ordeña mecánica por día en las mañanas a las 8:00 hrs. En este grupo 5 cabras amamantaron a un cabrito, 4 cabras a dos cabritos y dos amamantaron a tres crías. La fecha promedio del parto en las hembras de este grupo fue el 3 de febrero de 1997 \pm 7.5 días.

Grupo de ordeña (GO): 3 cabras primíparas y 7 multíparas (prolificidad 1.7 \pm 0.2) a las cuales las crías se les retiraron a los 4 días postparto y fueron ordeñadas una vez por día en las mañanas a las 8:00 hrs. En este grupo 4 cabras parieron 1 cría, 5 parieron dos crías y 1 cabra parió tres crías. La fecha promedio del parto en las hembras de este grupo fue el 29 de enero de 1997 \pm 7.0 días.

Los cabritos del grupo GO fueron separados totalmente de sus madres al día 4 postparto y se colocaron en un corral separado. En los grupos de contacto madre-cría restringido, los cabritos fueron progresivamente habituados a la separación diaria hasta alcanzar la restricción propuesta al día 7, cuando las mediciones fueron iniciadas. Las crías del grupo GO fueron alimentadas dos veces por día con la leche obtenida de sus madres hasta el final del estudio a los 60 días postparto, ofreciendo en cada ocasión toda la leche que podían consumir. Para realizarlo se utilizaron biberones. Adicionalmente, en todos los grupos las crías tuvieron libre acceso a concentrado comercial y a heno de alfalfa por las mañanas y todo el día en las crías del GO, además de tener acceso al alimento ofrecido a las madres en los tres grupos con contacto madre-cría.

Variables evaluadas

La producción de leche fue estimada al día 37 de lactancia durante un período de 24 h mediante el método de la diferencia de peso de la cría antes y después de amamantarse en los grupos C, 10h, 5h (Ricordeau *et al.*, 1960). En el GO, se estimó realizando 2 ordeñas a un intervalo de 12 horas. En todos los grupos, se realizó un primer vaciado de la ubre antes de iniciar las mediciones. Los detalles del procedimiento son mostrados en la tabla 5. En todos los casos se realizó una ordeña a mano para extraer la leche residual después de cada amamantamiento u ordeña y el peso fue adicionado a la correspondiente medida. La producción total de leche en un período de 24 hrs fue calculada sumando las cantidades obtenidas durante las mediciones de las 10:30 (grupos de amamantamiento) o 19:30 (grupo de ordeña GO) hasta el siguiente día incluido.

Adicionalmente, en los 3 grupos en los cuales se realizó ordeña (5h, 10h y 5h), la cantidad total de leche obtenida durante los dos meses de estudio fue medida sumando las cantidades diarias obtenidas durante la ordeña, iniciándose desde el día 7 postparto hasta el final del estudio a los 60 días de lactancia.

Las crías en todos los grupos, fueron pesadas semanalmente hasta los 60 días y se calculó la tasa de ganancia diaria de peso.

Análisis Estadísticos.

Como las variables estudiadas mostraron una distribución normal (prueba de *Lilliefors*) se utilizaron los procedimientos de estadística paramétrica (Moore y McCabe, 1989). Así, los datos de la cantidad total de leche colectada durante el estudio y la producción de leche al día 37 de lactancia fueron analizados con un análisis de varianza (ANOVA) a un factor (tratamiento). Para la comparación de medias de los tratamientos se utilizó la prueba *pos hoc* LSD. Los cambios en el peso de las crías fueron analizados con un MANOVA para medidas

repetidas a dos factores (tiempo*tratamiento). Asimismo, se utilizó la prueba *pos hoc* LSD para comparar las medias de los tratamientos. Estos análisis se realizaron utilizando el paquete estadístico Systat 7.0 (SPSS, Chicago). Los resultados fueron expresados en promedio \pm error estándar del promedio (\pm sem).

Tabla 5 Método utilizado para la estimación de la producción de leche.

Grupos	Hora del día						
	20:00 h	7:30 h	10:30 h	13:30 h	16:30 h	19:30 h	7:30 h
C, 10h y 5h	Separación de las crías	Vaciado de la ubre (amamanta miento)	Amamanta miento y pesaje	Amamanta miento y pesaje	Amamanta miento y pesaje	Amamanta miento y pesaje	Amamanta miento y pesaje
GO		Vaciado de la ubre (ordeña)	↓	↓	↓	Ordeña y pesaje de la leche ↓	Ordeña y pesaje de la leche ↓

Medidas utilizadas para calcular la producción de leche

C: grupo control, contacto permanente; 10h: 10 horas de contacto madre-cria/día; 5h: 5 horas de contacto madre-cria/día; GO: grupo de ordeña, no contacto madre-cria.

Resultados

Producción de leche sobre un periodo de 24 horas en el día 37 de lactancia.

La producción de leche al día 37 de lactancia no difirió significativamente entre los grupos C, 10h y 5h (3.1 kg \pm 0.3, 2.9 kg \pm 0.2 y 2.7 kg \pm 0.3, respectivamente), mientras que esta producción fue menor en el grupo GO (1.8 kg \pm 0.3, $p < 0.05$ con cualquiera de los otros 3 grupos).

Total de leche disponible por cabra obtenida en la ordeña

Cuando se comparan las cantidades promedio de leche colectada en la ordeña durante el estudio en los tres grupos que se les realizaba ordeña, no se encontraron diferencias significativas entre grupos (75.5 kg \pm 5.1, 75.5 kg \pm 11.0 y 89.2 kg \pm 15.4, para los grupos 10h, 5h, y GO, respectivamente, $p > 0.05$). Sin embargo, cuando se toma en cuenta la cantidad

de leche consumida por las crías en el grupo GO, la cantidad disponible para venta se reduce a solo 5.2 kg / cabra en este grupo (ver figura 16).

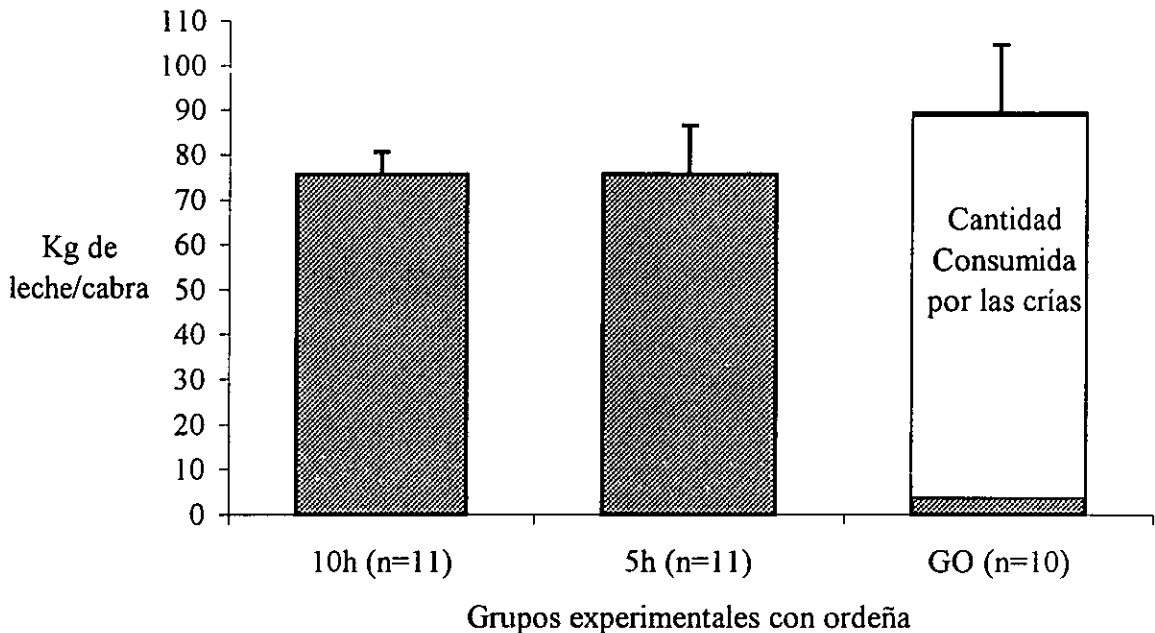


Figura 16. Cantidad promedio (\pm SEM) de leche total disponible por cabra colectada durante la ordeña del día 7 al día 60 de lactancia. El área blanca en la barra del grupo GO muestra la cantidad promedio de leche consumida por las crías durante todo el período de crianza en ese grupo. Las áreas grises en cada grupo muestran la cantidad de leche disponible / cabra. 10H: una ordeña y 10 horas de contacto madre-cría/día; 5H: una ordeña y 5 horas de contacto madre-cría/día; GO: solo una ordeña/día, sin contacto madre-cría.

Pesos al destete y tasa de ganancia diaria de las crías

Aparte de mostrar un efecto general del factor tiempo ($p < 0.001$), el ANOVA para medidas repetidas también reveló un efecto significativo del tratamiento ($p < 0.01$), así como también una interacción entre el tiempo*tratamiento ($p < 0.001$). Así, la prueba *pos hoc* indicó que el peso al destete en el grupo GC ($15.6 \text{ kg} \pm 0.7$) fue mayor que en los grupos 10h, 5h y MO ($11.8 \text{ kg} \pm 0.7$, $12.2 \text{ kg} \pm 0.7$ y 13.2 ± 0.7 , respectivamente; $p \leq 0.026$ en todos los casos). Con

respecto a las ganancias diarias de peso de las crías, los resultados fueron similares: la ganancia diaria de peso en el GC ($209 \text{ g} \pm 13.0$) fue mayor que en los otros tres grupos (10h: $140.0 \text{ g} \pm 11.0$; 5h: $148.0 \text{ g} \pm 0.9$; MO: $170.0 \text{ g} \pm 5.0$; $p \leq 0.012$ en todos los casos; *LSD test*), mientras que en estos tres últimos grupos no existieron diferencias significativas.

Discusión

Este estudio demuestra que el amamantamiento restringido durante la lactancia temprana, permite obtener significantes cantidades de leche por ordeña, cuando se compara con el método tradicional de crianza en los sistemas de doble propósito, en los cuales, la ordeña de los animales inicia sólo hasta que las crías alcanzan una edad de 30 a 60 días. Por otra parte, esta restricción es asociada con una menor tasa de crecimiento en las crías y un peso de aproximadamente 3.5 kg más ligero en los grupos restringidos durante los primeros 2 meses de edad. Sin embargo, la ganancia en la cantidad colectada de leche compensa esta pérdida.

También, los resultados del presente trabajo sugieren que los hábitos naturales de amamantamiento de las crías son suficientemente flexibles para permitir reducir el tiempo de contacto madre-cría a períodos tan cortos como 5 horas por día. En efecto, la comparación del peso de las crías entre el grupo de 5 y 10 horas de contacto diario no resultó significativa. Como lo demostraron los actogramas del primer estudio, de manera espontánea, y en nuestras condiciones experimentales, las crías de esta especie tienen aproximadamente unas 4 sesiones de amamantamiento/ 6 horas durante el primer mes de lactancia. Asimismo los estudios de la relación espacial madre-cría en confinamiento, o en condiciones naturales, indican que durante los primeros 4 a 7 postparto, las madres y sus crías se reúnen pocas veces debido a la conducta escondediza de las crías (Rudge, 1970; McDougall; 1975; Lickliter, 1984a y b). Tomando en consideración las características descritas anteriormente y los resultados del presente trabajo,

en conjunto se demuestran que las crías pueden adaptarse fácilmente a reducciones importantes en el tiempo de interacción natural con su madre, desde la primera semana de vida. Sin embargo, la restricción induce que el peso de las crías sea ligeramente menor en comparación con el grupo de interacción libre. Esto es diferente a lo reportado en bovinos y en ovejas, en las que no se encontró diferencias de peso entre los animales sometidos a una restricción y los que tenían acceso libre a su madre. En vacas se ha reportado que 30 a 60 min de contacto diario son suficientes para obtener un óptimo crecimiento del becerro (Pérez, 1992; SanJuan *et al.*, 1993; Browning *et al.*, 1994; Rodríguez y Segura, 1995; Das *et al.*, 1999). Ello puede ser debido al hecho de que en esta especie, en condiciones naturales, el amamantamiento es limitado a entre 2 y 4 periodos en el día (Nicol y Sharafeldin, 1975), por lo cual los becerros se adaptan fácilmente a una restricción. También los estudios realizados en la oveja no muestran un efecto de la restricción sobre el crecimiento de los corderos (Folch y Blasco, 1987; Mandiki *et al.*, 1990). Sin embargo, en ambos estudios en las ovejas y corderos restringidos, el período de contacto madre-cría fue dividido en dos o más fases durante el día y además en esos estudios no se realizó una ordeña. Por ejemplo, en el estudio de Mandiki *et al.* (1990), las sesiones de amamantamiento fueron permitidas a las 6:00, 14:00 y 22:00 hrs del día. Probablemente esas diferencias en el manejo podrían contar para explicar la discrepancia entre los resultados del presente trabajo y los encontrados en ovejas, más que una capacidad disminuida para adaptarse a la restricción en el período de contacto madre-cría. De hecho, cuando se considera que una sustancial parte de la producción de leche de la madre es colectada en la ordeña (como en el grupo 5h), se puede asumir que los cabritos se adaptan bien a la restricción.

El hecho que los cabritos del grupo 10h tuvieron un peso menor que el control, y que este peso no fue mayor que en los cabritos del 5h, podría ser debido a que el tiempo transcurrido de la

ordeña a que ocurrió la reunión madre-cría. En efecto, en el grupo 10h este intervalo fue tan corto (una hora aproximadamente) que posiblemente no permitió una buena reaccumulación de la leche en las cisternas de las madres, como posiblemente pudo ocurrir en las cabras del grupo 5h., resultando eventualmente en cantidades equivalentes de leche disponible en ambos grupos. Lo anterior podría explicar en parte la diferencia entre los resultados del presente estudio y los reportados en ovejas. En ovejas, las sesiones de amamantamiento fueron limitadas a 2 ó 3 veces durante el día, y los intervalos entre estas sesiones fueron de hasta 8 horas, lo cual permitió un tiempo para la síntesis de leche y su acumulación. Por ello, los corderos posiblemente consumieron una mayor cantidad de leche cisternal en cada sesión de amamantamiento, obteniendo así tasas de crecimiento similar a los corderos que tenían acceso libre con su madre. Los resultados del presente estudio son similares a lo encontrado en bovinos por Pérez (1992). Este autor reportó que los becerros que se les permitió amamantarse por 2 h ó 30 min, ocho horas después después de la ordeña, tuvieron mayor ganancia de peso que los becerros que se amamantaron el mismo tiempo inmediatamente después de la ordeña. Sin embargo, en el presente trabajo la ligera desventaja en el peso de las crías en los grupos restringidos no es comparable con la gran ventaja en la cantidad de leche colectada en esos grupos durante la ordeña; principalmente, si se considera que la cantidad de leche colectada representa un parte principal de los ingresos de los productores, al menos en la región norte de México (Hoyos *et al.*,1991). En efecto, la pérdida de 3.5 kg de peso de las crías es compensada por la colecta de aproximadamente 75 kg de leche. Además la cantidad obtenida en los grupos restringidos no fue menor que la obtenida en el grupo de solo ordeña. En otras palabras, 5 ó 10 horas de contacto madre-cría permite alcanzar un nivel de producción de leche similar a lo que producen las cabras en contacto libre con sus crías, como lo mostró la variable producción de leche al día 37 de lactancia. En rumiantes está bien establecido que la

evacuación de la leche de las glándulas mamarias es un mecanismo importante que favorece la síntesis de leche (Linzell y Peaker, 1971; Fleet y Peaker, 1978; Wile y Peaker, 1990) y que dos ordeñas por día resulta en una mejor producción (cabra: Mocquot y Guillimin, 1975; oveja: Negrao, 1996). En efecto, esta práctica de contacto restringido permite obtener un nivel global de producción de leche equivalente al obtenido en hembras separadas de sus cabritos y ordeñadas dos veces al día. Esto es de interés para aplicarse en los sistemas semi-intensivos en los países en desarrollo. Por ejemplo, por razones técnicas los pequeños productores en esos sistemas, ordeñan sus cabras solo una vez por día, y alimentan a los cabritos con sustitutos de leche para poder dedicar la totalidad de la leche ordeñada a su comercialización. El presente trabajo demuestra que es posible evitar el costo del sustituto lácteo y del pago de la labor para alimentarlos, con simplemente permitirle a la cría un tiempo corto de acceso con su madre y sin tener pérdidas en la leche colectada en la ordeña.

Adicionalmente al efecto de la evacuación de la leche, también es posible que la presencia de la cría estimule la producción de leche influenciando los perfiles de hormonas galactopoiéticas (Le Neindre, 1984; Lamb *et al.*, 1999). Lo anterior podría explicar en parte porque en el presente estudio las cabras del grupo GO tuvieron una menor producción al día 37 de lactancia que en las cabras que amamantaron. Por ejemplo, Labussière y Petrequin (1969) reportaron que en las ovejas lecheras, la expulsión de la leche durante la ordeña es facilitada si el cordero está presente en ese momento. En bovinos, Perez *et al.* (1985) reportaron que la liberación de prolactina en respuesta a la estimulación de la ubre fue mayor durante el amamantamiento que durante la ordeña. No se conoce si en cabras la presencia de la cría estimule la lactancia a través de mecanismos similares, aunque los resultados de McNeilly (1972) no sugieren que la liberación de oxitocina sea afectada por el tipo de estimulación (ordeña manual vs amamantamiento).

En conclusión, los resultados del presente estudio sugieren que el amamantamiento restringido a los cabritos durante los dos primeros meses de lactancia, puede ser asociado con una ordeña diaria para promover la producción de leche, sin tener efectos tan detrimentales sobre el crecimiento de las crías. Este sistema de crianza de las crías resulta interesante no solo para los productores de carne de cabrito, sino también para los productores de leche que normalmente realizan una ordeña por día. Por otra parte, habría que considerar que los resultados del presente estudio fueron obtenidos usando animales de tipo lechero, bajo óptimas condiciones de alimentación como: la disposición de alimento concentrado y una buena calidad del forraje. Por ello, sería interesante investigar hasta cuanto podrían extenderse estos resultados, bajo condiciones más extensivas, como las encontradas en los climas semi-áridos usando cabras con bajo nivel de producción y sin dieta suplementaria.

Conclusiones

La reducción en el período normal de contacto madre-cría asociada con una ordeña por día es un método eficiente para la obtención temprana de leche en esta especie. En efecto, este estudio demuestra que reduciendo el tiempo de permanencia de las crías con su madre desde la lactancia temprana permite disponer de una cantidad de leche adicional. Esto es de gran interés para los productores de los sistemas de doble propósito (carne y leche) en los países de zonas semi áridas y tropicales, en los que la cría permanece libremente con su madre al menos durante los primeros 30 a 60 días de lactancia y por consiguiente no se puede disponer de la leche durante ese tiempo.

En nuestras condiciones experimentales, esa reducción en el período normal de contacto madre-cría no afecta de manera detrimental el crecimiento de las crías, inclusive si sólo interactúan 5 horas por día.

Se deberá considerar que el presente estudio se realizó con animales de elevado nivel de producción de leche y en condiciones óptimas de alimentación. Por lo que se sugiere repetir el protocolo con animales de bajo potencial de producción y en condiciones de manejo extensivo.

Asimismo, sería interesante investigar si se puede reducir aún más el tiempo de contacto madre-cría y evaluar el efecto sobre el crecimiento de la cría y evaluar el efecto de reducir el amamantamiento sobre el reinicio de la actividad sexual postparto en madres que paren durante la época reproductiva

SEGUNDA FASE EXPERIMENTAL

**EFECTO DEL TIEMPO DIARIO DE RELACION MADRE-CRIA Y DE
LA SELECTIVIDAD MATERNAL SOBRE LA RESPUESTA
HORMONAL A LA SUCCION.**

**EFECTO DEL BLOQUEO DE LA SELECTIVIDAD MATERNAL
DEBIDO A UNA ANOSMIA SOBRE LA DURACION DEL ANESTRO
POSTPARTO**

Estudio 4

Efectos de restringir el período diario de contacto madre-cría sobre el perfil de liberación de prolactina y hormona del crecimiento al momento de la succión en cabras

Introducción

En mamíferos, la actividad secretora de la glándula mamaria es generalmente paralela a la demanda de leche de la (s) cría (s) (Tucker, 1994). Por ello, las relaciones madre-cría determinan en gran medida el desarrollo de la lactancia. Por ejemplo, en las ratas, el período normal de lactancia puede ser prolongado reemplazando la camada que está por destetarse por otra camada más joven (Nicoll y Meites, 1959; Bruce, 1958). Resultados similares se han reportado en la coneja (Clapp *et al.*, 1987), en la cual también se comprobó que el intercambio de la camada original por una más madura, induce que la producción de leche disminuya durante la lactancia temprana (Mena *et al.*, 1991). En cerdas ordeñadas, se ha reportado que el pico de la producción de leche es mayor y ocurre más temprano en cerdas cuya camada original ha sido reemplazada a los 25 días de lactancia por una camada de una semana de edad, que en cerdas que se encuentran en el mismo estadio de lactancia y que continuaron amamantando a sus propias crías (Garst, *et al.*, 1999). Asimismo, la restricción en el período de contacto madre-cría en ratas influye de manera importante sobre la producción de leche. Por ejemplo, Grosvenor *et al.* (1970) mostraron que cuando a las ratas se le restringen las crías por 16 ó 24 horas, las glándulas mamarias se recargan con leche a solo un tercio de su capacidad. En cambio, cuando la restricción es de solo 8 horas ó menos, las glándulas mamarias se recargan a un nivel normal.

En la especie bovina, Le Neindre (1984) demostró que el destete precoz de la cría causa perturbaciones al momento de la expulsión de la leche durante la ordeña. Por otro lado, cuando la vaca ha establecido un vínculo selectivo con su becerro y éste es removido, se produce una aguda disminución en la producción de leche en la primer semana después de haberle retirado la cría. Sin embargo, cuando el becerro es regresado nuevamente con su madre, la vaca recupera su nivel de producción de leche. En un estudio más reciente Lamb *et al.* (1999), mostraron que las vacas productoras de carne que son ordeñadas aunque en presencia restringida de su becerro, tuvieron una mayor producción diaria de leche (7.1 ± 0.6 kg) que las vacas ordeñadas una vez por día y cuyos becerros fueron destetados precozmente (3.5 ± 0.6 kg).

También se ha demostrado que el tiempo de contacto madre-cría previo al amamantamiento influye de manera importante sobre la endocrinología de la lactancia. Por ejemplo, en la rata la disminución en las concentraciones de PRL de la pituitaria debido a 30 min de amamantamiento en el día 7 de lactancia, es menor después de 4 hrs de separación de las crías que después de 8 hrs de separación (Grosvenor y Turner, 1958b). En esta misma especie, se ha observado que cuando las crías se separan por 2, 4 y 8 horas, y después se colocan con su madre para amamantarse durante 90 min (cambiando sus crías por otra camada adoptada a los 30 y 60 min), la tasa de secreción continua de PRL varía en relación directa con el tiempo de separación. La secreción continua decae después de 30 y 60 min de amamantamiento en los grupos separados por 2 y 4 horas. En cambio, la secreción continua de PRL no desciende, incluso con 90 min de amamantamiento, en el grupo separado por 8 horas (Grosvenor *et al.*, 1979).

En las hembras bovinas lactantes la presencia o la ruptura de la conducta maternal influye sobre la liberación de PRL. Por ejemplo, Pérez *et al.* (1985) determinaron que en vacas que amamantan a sus crías, la descarga de PRL al momento de estimulación de la ubre es mayor que en vacas ordeñadas solamente. Lo anterior apoya los resultados encontrados por Lamb *et al.* (1999); en el sentido de que posiblemente, la mayor descarga de hormonas galactopoiéticas en las madres que interaccionan aunque sea de manera restringida con su cría, pudo facilitar una mayor producción de leche que en las hembras sometidas a la ordeña solamente. Sin embargo, se desconocen los mecanismos precisos por los cuales se estimula la producción de leche en esas condiciones. En ovinos, existen razas lecheras en las cuales se ha demostrado que la salida de la leche durante la ordeña es facilitada si el cordero está presente (82 % vs 48 % en su ausencia; Labussière y Petrequin, 1969; Labussière, 1988).

Sin embargo, en mamíferos, la liberación de hormonas galactopoiéticas como la PRL o bien la OT no sólo es inducida por la estimulación de los pezones de las glándulas mamarias. En efecto, en la rata lactante la PRL presente en la adenohipófisis es agotada con la sola exposición de las crías y sin contacto físico, después de un período de separación (Mena y Grosvenor, 1971). Este mecanismo de liberación desarrollado principalmente hacia el final de la lactancia en ratas, ha sido llamado estimulación exteroceptiva no táctil. Además, estos autores determinaron que el olor de las crías era la principal señal sensorial que inducía esta liberación de PRL en las madres (Mena y Grosvenor, 1971). Asimismo, en bovinos Stevenson *et al.* (1994) demostraron que las vacas que son mastectomizadas (remoción quirúrgica de las glándulas mamarias), presentan una elevación de PRL y de OT con la sola percepción de los eventos asociados al amamantamiento de su becerro, después de un período de separación. Peeters *et al.* (1973) obtuvieron resultados similares, encontrando evidencia indirecta de una liberación de oxitocina debido a una estimulación exteroceptiva por las crías. Ellos detectaron

que en vacas, la percepción de las características visuales de su becerro, después de haber sido separado, indujo un fluido de leche en una teta canulada en esas hembras. También, en ovejas lactantes Fuchs *et al.* (1987), encontraron que la liberación de OT puede ser inducida por estímulos condicionados y no condicionados, relacionados con el amamantamiento de las crías.

Sin embargo, en lo que respecta a las cabras, no existen estudios específicos que investiguen el efecto de restringir el tiempo diario de contacto madre-cría sobre la respuesta hormonal al momento de la succión.

Objetivo

El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la separación diaria y definitiva de las crías sobre la respuesta de liberación de PRL y GH al momento de la estimulación de la ubre por el amamantamiento o la ordeña.

Hipótesis

Se postula que en las hembras que interactúan libremente con sus crías, la respuesta de PRL y GH a estimulación táctil de la ubre es mayor que en las hembras a las que se les restringe el tiempo diario de contacto madre-cría y también que en las hembras cuyos cabritos han sido destetados en los primeros días postparto y que son sometidas a la ordeña.

Material y Métodos

Para este estudio se utilizaron 20 animales del estudio anterior, los cuales estuvieron sometidos a los siguientes tratamientos:

Grupo control (GC): 5 cabras que tenían un tiempo libre de interacción madre-cría durante el estudio y que no fueron ordeñadas. En este grupo tres cabras amamantaron a 1 cría y dos cabras amamantaron 2 crías.

Grupo 10 horas (G10): 6 cabras que interactuaban 10 horas / día con sus crías y que fueron ordeñadas por las mañanas a las 0800 hrs. En este grupo una cabra amamantó a 1 cría y cinco cabras a 2 crías.

Grupo 5 horas (G5): 4 cabras que interactuaban 5 horas / día con sus crías y que fueron ordeñadas por las mañanas a las 0800 hrs. En este grupo dos cabras amamantaron a 1 cría y dos cabras a 2 crías

Grupo de ordeña (GO): 5 cabras a las cuales se les destetó sus crías al tercer día de vida y fueron sometidas a una ordeña por día en las mañanas a las 0800 h. En este grupo una cabra parió a 1 cría y cuatro a 2 crías.

La alimentación y manejo en estos animales son los mismos mencionados en el estudio anterior.

Los cabritos del grupo GO fueron separados totalmente de sus madres al día 4 postparto y se colocaron en un corral separado. En los grupos de contacto madre-cría restringido, los cabritos fueron progresivamente habituados a la separación diaria hasta alcanzar la restricción propuesta al día 7 postparto.

Muestreo seriado de sangre durante la succión al día 35 de lactancia

Este se realizó dentro de un corral individual de 2 x 2 m que se colocó en el interior del mismo corral en el cual la cabra permanecía alojada e interactuaba con su (s) cría (s). A todas las hembras se les colocó un catéter de teflón que se insertó 1.5 horas antes de iniciar el muestreo. Para realizarlo, se afeitó y anestesió la parte del cuello de la cabra en donde se incidía con el catéter. Una vez fijado al cuello, el catéter fue llenado con una solución de Heparina sódica, para mantener funcional el catéter. Los muestreos se realizaron por la mañana variando de las 0900 a las 1100 horas del día. Todas las crías de las cabras a las cuales se les realizaba muestreo fueron separadas desde la noche anterior y se colocaron en un corral contiguo al de

las madres; por lo que estas podían ver y escuchar a sus crías. Sin embargo, antes del inicio del muestreo las crías se colocaron en otro corral de 2 x 2 m cercano (las madres podían verlos y escucharlos) al de las madres, para poder disponer de las crías lo más pronto posible al momento de la succión. En cada grupo se muestreó cuando fue posible hasta tres animales al mismo tiempo, los cuales se encontraban en corrales contiguos; sin embargo, cuando solo se sangraba a un animal, se colocaban otras dos hembras a su lado. El muestreo se realizó empezando un día con uno de los dos estímulos, con su cría (GC, G10 y G5) o durante la ordeña (GO, G10 y G5). El orden de los estímulos se realizó aleatorizado en dos días consecutivos. Cuando la madre amamantaba a dos crías se colocaron las dos para la estimulación. Las primeras dos muestras se tomaron a -1 y -0.5 min antes del amamantamiento u ordeña. Después de iniciado la estimulación al minuto 0, se tomaron muestras a los 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 10 y 15 min de iniciada la estimulación. La estimulación consistió de 4.0 min de amamantamiento ó 3.0 min de ordeña. La cantidad de sangre obtenida en cada tiempo fue de 10 ml utilizando una jeringa diferente para cada muestra. La sangre obtenida fue colocada en tubos que contenían heparina sódica y se colocaron inmediatamente en una hielera. Terminado el muestreo, se centrifugaron las muestras a 3000 r.p.m. durante 20 min en una centrifuga refrigerada y el plasma obtenido fue inmediatamente congelado a -20 ° C y conservados así, hasta la realización de los radioinmunoensayos.

Ensayos hormonales

La PRL y la GH fueron ensayadas por radioinmunoensayo (RIA) según técnica descrita por Kann, (1971) y Lacroix *et al* (1996), respectivamente. Para la PRL, el límite de detección fue de 1.24 ng/ml. Los coeficientes de variación inter e intraensayo, fueron de 4.5 % y 12.6 % en

1.36 ng/ml. Para la GH, los coeficientes de variación inter e intraensayo fueron de 11 % y 5.8 % respectivamente. La sensibilidad del ensayo fue de 0.62 ng/ml.

Variables evaluadas

Perfil de liberación en los niveles periféricos de la PRL y de GH en respuesta a la estimulación de la ubre (amamantamiento: GC, G10, y G5; ordeña: G10 G5 y GO) en función al grado diario de interacción madre-cría..

Análisis Estadístico

Con los niveles obtenidos se realizó un MANOVA para medidas repetidas a dos factores tiempo x grupo. El primer MANOVA se realizó tomando en cuenta los niveles obtenidos con su cría (GC, G10 y G5) y durante la ordeña (GO). En el segundo análisis, se tomaron en cuenta los niveles obtenidos solos durante la ordeña (G10, G5 y GO). En ambos casos, cuando existió un efecto significativo del tratamiento, cada nivel fue comprado entre grupos mediante la prueba *pos hoc* LSD. Todos los análisis se realizaron apoyándose del paquete estadístico SYSTAT versión 7 (SPSS, Chicago). Los resultados fueron expresados en promedio \pm error estándar del promedio (\pm sem).

Resultados

Respuesta de la PRL en función al grado de interacción madre-cría

El MANOVA para medidas repetidas reveló un efecto del grado de interacción madre-cría sobre los niveles de esta hormona (efecto grupo; $p < 0.05$; figura 17), mientras que no indicó un efecto del tiempo de muestreo. Sin embargo, reveló una interacción tiempo*tratamiento ($p < 0.001$), indicando que los niveles evolucionaron de manera diferente en los varios grupos. En efecto, aunque en los niveles basales a 0.8 min antes de la estimulación, se observa una tendencia de ser más elevados en el G5 que en el G10, la diferencia no fue significativa (225.0 ± 79.9 vs. 99.0 ± 32.0 ng/ml; $p = 0.18$). Por otro lado, los niveles basales registrados en el G5

fueron más elevados que los registrados en el GC y GO (28.0 ± 3.6 y 41.0 ± 8.9 ng/ml, respectivamente; $p < 0.05$), mientras que éstos últimos dos no difirieron significativamente. La misma tendencia se observó a 1 min de iniciada la estimulación: los niveles elevados encontrados en el G5 y G10 no fueron diferentes estadísticamente (264.3 ± 73.8 y 112.3 ± 42.6 ng/ml, respectivamente; $p > 0.05$). Sin embargo, los niveles registrados en el G5 fueron más elevados que los encontrados en los grupos GC y GO (37.0 ± 8.5 y 26.6 ± 10.4 ng/ml, respectivamente; $p < 0.05$), mientras que éstos últimos valores no difirieron significativamente ($p = 1.0$). Como se puede observar en la figura 17, los niveles solo variaron significativamente con el tiempo en el GC y el GO ($p < 0.05$ y $p < 0.01$, respectivamente).

Respuesta de la PRL a la ordeña en función al grado de interacción madre-cría.

En este caso el MANOVA señaló una tendencia para el efecto tratamiento ($p = 0.054$), pero además mostró un efecto significativo del tiempo de muestreo y de la interacción tiempo*tratamiento ($p < 0.001$ y $p < 0.05$). Por ello, al observar los valores en la figura 18, se puede notar que los niveles basales en los grupos restringidos (G10 y G5), durante la ordeña fueron mayores que en el GO (120.0 ng/ml ± 25.0 y 154.0 ng/ml ± 32.0 vs 41.0 ng/ml ± 8.5 ; respectivamente; $p < 0.055$). Asimismo, los niveles a 1.5 minuto post-estimulación fueron mas elevados en el G5 (184.0 ng/ml ± 49.0) que en el GO (41.0 ng/ml ± 6.7 ; $p < 0.055$). Pero no existieron diferencias entre el G5 y G10 ni entre el G5 con el GO ($p > 0.06$; figura 18).

Respuesta de la GH en función al grado de interacción madre-cría

Esta hormona mostró un patrón similar a la PRL. Efectivamente el MANOVA reveló una tendencia del efecto tratamiento ($p = 0.067$; figura 19) y un efecto del tiempo de muestreo ($p < 0.01$). Sin embargo la interacción tiempo*tratamiento no fue significativa. Tomando en consideración la tendencia del efecto grupo, se puede observar en la figura 19 que el nivel

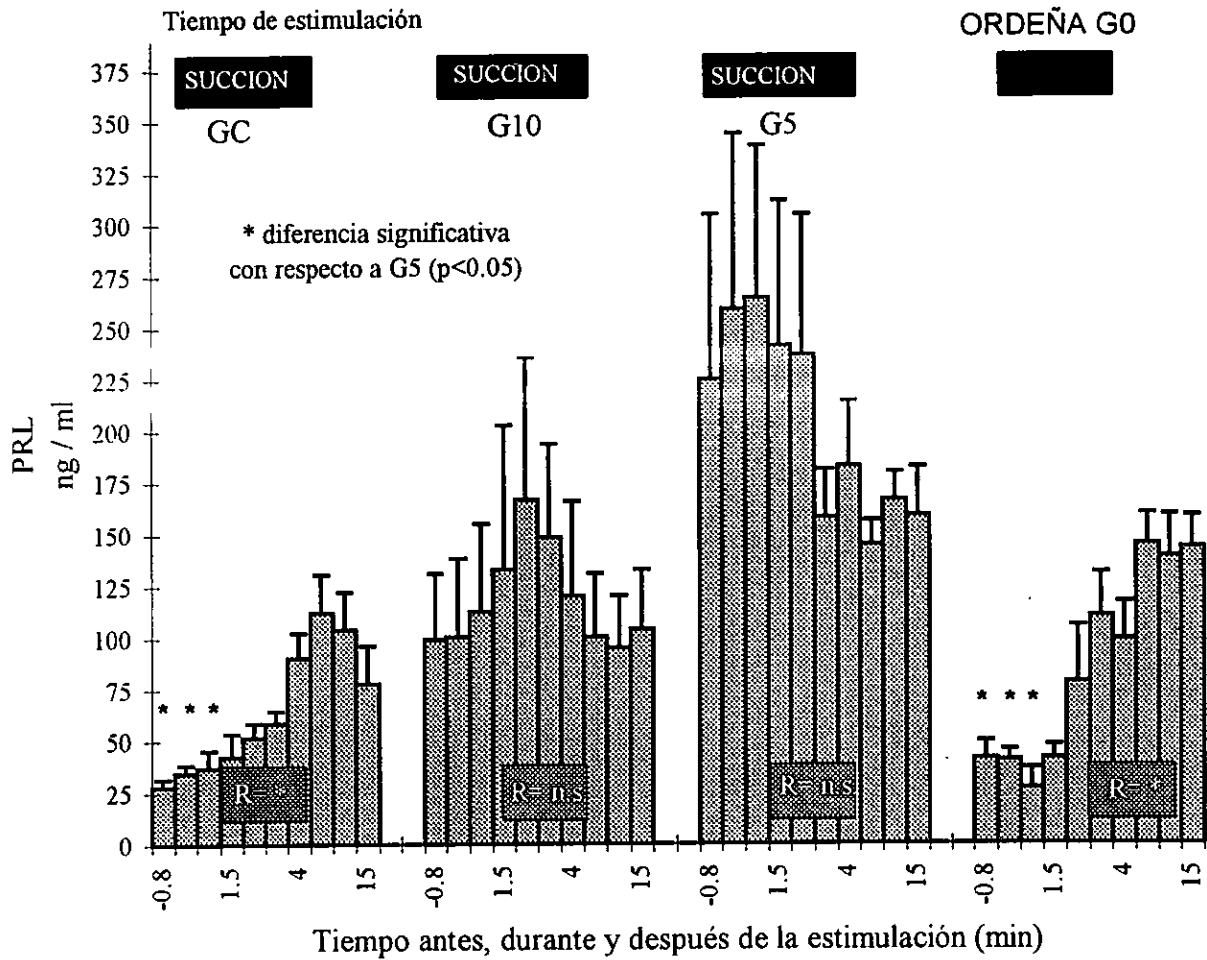


Figura 17. Niveles plasmáticos de PRL (promedio \pm sem) en respuesta al amamantamiento u ordeña (GO), en cabras sometidas a diferentes grados de interacción madre-cría. La R, indica si los niveles fluctuaron o no a través del tiempo de muestreo en cada grupo (*= $p < 0.05$, n.s.= $p > 0.05$).

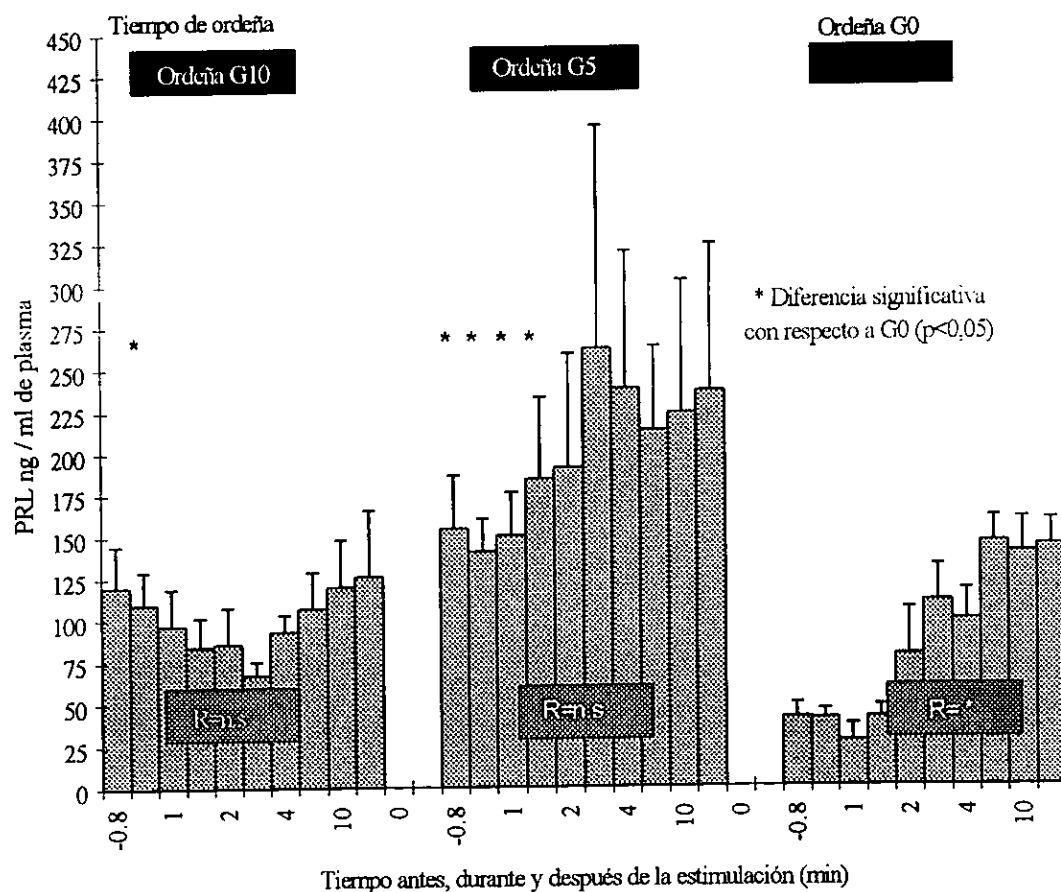


Figura 18. Niveles plasmáticos de PRL (promedio \pm sem) en respuesta a la ordeña, en cabras sometidas diferente grado de interacción madre-cría. La R, indica si los niveles variaron o no a través del tiempo de muestreo (*= $p < 0.05$; n.s.= $p > 0.05$).

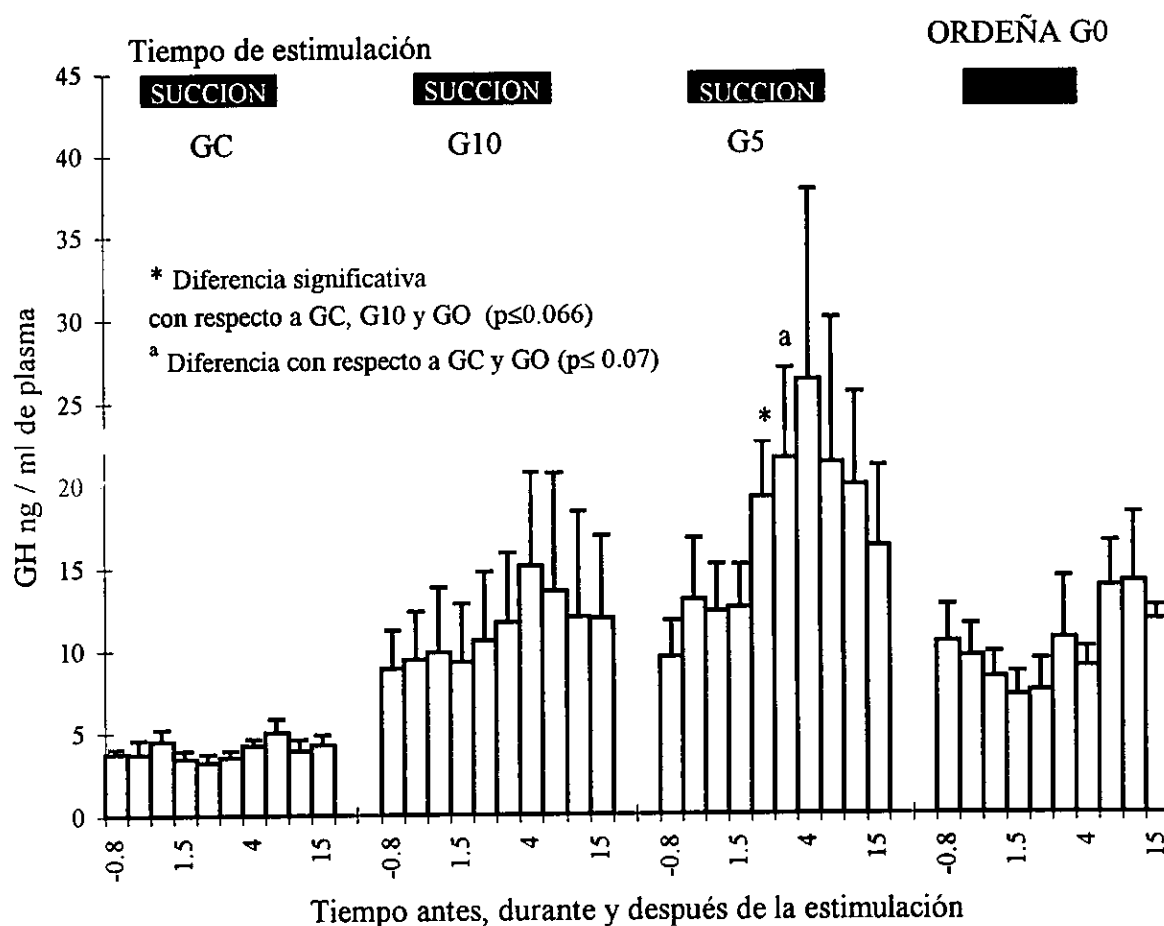


Figura 19. Niveles plasmáticos de la GH (promedio \pm sem) en respuesta al amamantamiento u ordeña (GO), en cabras sometidas a diferente grado de interacción madre-cría. Los niveles no variaron durante el tiempo de muestreo en ninguno de los 4 grupos en estudio por separado ($p > 0.05$). Sin embargo considerando a los 4 grupos, existe un efecto general del tiempo de muestreo ($p < 0.01$).

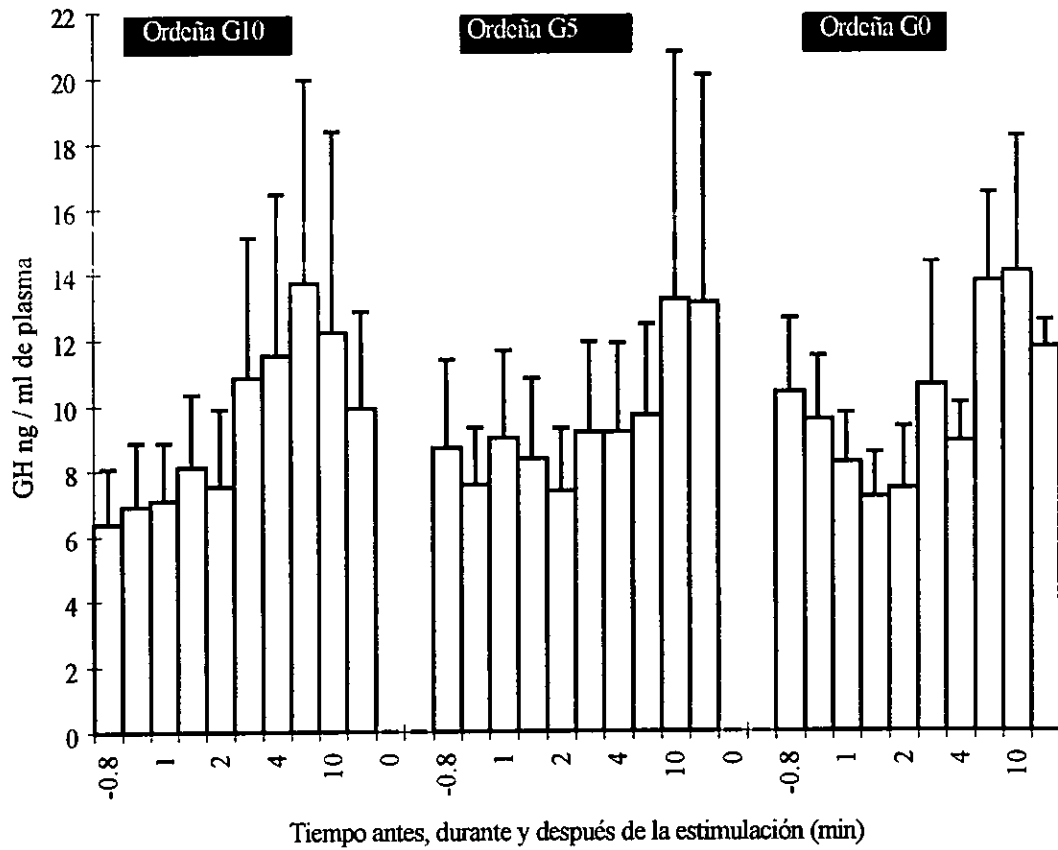


Figura 20. Niveles plasmáticos de la GH (promedio \pm sem) en respuesta a la ordeña, en cabras sometidas a diferentes grados de interacción madre-cría. Los niveles no variaron durante el tiempo de muestreo en ninguno de los 4 grupos en estudio ($p > 0.05$).

obtenido a 2.0 min de iniciada la estimulación en el G5 ($19.2 \text{ ng/ml} \pm 3.3$) fue más elevado que en los grupos GC, G10 y GO (3.2 ± 0.5 , 10.5 ± 4.2 y $7.4 \pm 1.9 \text{ ng/ml}$, respectivamente; $p \leq 0.066$). Los niveles de GH encontrados a 3.0 min post-estimulación no fueron diferentes entre los grupos G5 y G10 (21.6 ± 5.4 y $11.7 \pm 4.2 \text{ ng/ml}$, respectivamente; $p=0.09$). En cambio, el nivel registrado en el G5 a 3.0 min post-estimulación fue mayor que el registrado en el GC ($3.5 \text{ ng/ml} \pm 0.4$; $p < 0.01$) y también tendió a ser más elevado que en el GO ($10.6 \text{ ng/ml} \pm 3.7$; $p=0.07$).

Respuesta de la GH a la ordeña en función al grado de interacción madre-cría

Al analizar las respuestas de la GH a la ordeña, el ANOVA no reveló efecto significativo del factor tratamiento ($p > 0.05$), como se ilustra en la figura 20. Aunque de manera general existió un efecto del tiempo de muestreo, la interacción tiempo*tratamiento no fue significativa ($p > 0.05$).

Discusión

Este es el primer estudio en cabras que determina el efecto de la restricción diaria del contacto madre-cría, al inicio de la lactancia, sobre la liberación de hormonas galactopoiéticas al momento de la estimulación de ubre durante la lactancia. Este estudio, demuestra que en cabras, cuando se restringe el período de contacto madre cría diariamente durante la lactancia, se induce una anticipación en la liberación de PRL y GH antes de la estimulación de la ubre.

Los niveles encontrados en el GC y el GO son similares a lo reportado anteriormente en esta misma especie por otros autores, indicando que tanto el amamantamiento como la ordeña son dos estímulos eficaces en inducir la liberación de prolactina y de la hormona del crecimiento (Bryant *et al.*, 1968; Buttle *et al.*, 1972; Hart, 1974). Por ejemplo, en el GO los niveles de PRL al momento de la ordeña se incrementan iniciando a los 2 min post-estimulación, mientras que

para la GH, aunque el perfil es irregular, los niveles más elevados se registran hasta los 6 min post-estimulación. Lo anterior sugiere que el incremento en los niveles de ambas hormonas ocurre de manera independiente, como lo sugirió anteriormente Hart (1974) en esta misma especie. Este autor determinó que durante la ordeña, los niveles de PRL se incrementan antes que los niveles de GH, observándose que el nivel pico de esta segunda hormona se presenta variando de 4 a 36 min después de iniciada la estimulación. Posiblemente, por ello en el GC no se observó que los niveles de GH se incrementaran durante los primeros 15 min post-amamantamiento. Es posible que si en el presente estudio se hubiera incrementado el tiempo de muestro a 30 min, también pudiera haberse detectado algún incremento en los niveles de GH. Sin embargo, al menos durante la ordeña, tanto en la cabra como en la oveja se ha demostrado que existe una amplia variabilidad de los animales para responder con una liberación de esta hormona (Hart y Flux, 1973; Martal, 1975).

En el presente estudio, tanto las cabras que amamantaron como las que solo fueron ordeñadas mostraron una liberación de PRL en respuesta a la estimulación de la ubre. Estos resultados no concuerdan con los obtenidos en vacas lecheras (Perez *et al.*, 1985). Estos últimos autores reportaron que cuando a las vacas se les desteta el becerro desde el nacimiento, y son sometidas a la ordeña, la mayoría de los animales no presentan una elevación de PRL al momento de la estimulación de la ubre. Los resultados de Perez *et al.* (1985) tampoco coinciden con otros reportes en la literatura, pues tanto en vacas como en cabras, está bien documentado que el estímulo de la ordeña induce una liberación de PRL (Reinhardt y Shams, 1974; Karg y Shams, 1974; Hart, 1975a). Tal vez en el estudio de Perez *et al.* (1985), la calidad del estímulo producido por la maquina ordeñadora utilizada influyó sobre la ausencia de respuesta de PRL. Otra posible explicación, es que en el estudio de Perez *et al.* (1985), los animales se muestrearon hasta el día 112 de lactancia, mientras que en los otros estudios los

muestreos se realizaron en etapas iniciales de la lactancia. Al respecto, se conoce que el estado de la lactancia influye sobre la respuesta de PRL en esta especie (Johke, 1970). Asimismo, los resultados del presente trabajo concuerdan con lo reportado por Marnet y Negrao (2000), quienes demostraron en la oveja, que el estímulo de la ordeña o del amamantamiento, aplicado a las mismas hembras, inducen una liberación de PRL.

Por otra parte, en vacas se ha demostrado que la presencia de la cría al momento de la ordeña disminuye la respuesta de liberación de PRL (Gordon *et al.*, 1979; Akers y Lefcourt, 1982, 1984). Aunque en el presente trabajo esto no fue estudiado, las cabras del G10 no muestran una respuesta de PRL a la ordeña. Sin embargo, en las cabras del G5, se puede observar un nivel basal mayor y un ligero incremento en los niveles durante la ordeña, aun si los niveles no variaron significativamente (figura 18). Posiblemente, debido a que las cabras del G10 interactuaron un mayor tiempo con sus crías, estas madres no presentaron una buena adaptación al estímulo proporcionado por la máquina ordeñadora, y por ello la respuesta de PRL durante ese momento fue bloqueada. En cambio, en las cabras que interactuaron solo durante 5 horas / día con sus crías, la adaptación al estímulo producido por la máquina ordeñadora pudo ser mejor. Si bien la liberación de PRL al momento de aplicar cierta estimulación, es indicativa de que el animal esté o no adaptado al estímulo proporcionado, esto puede ser un argumento especulativo. Sin embargo, en ovejas que son sometidas a una conducta mixta (amamantamiento y ordeña), ambos estímulos son capaces de inducir una respuesta de PRL (Marnet y Negrao, 2000). Posiblemente, diferencias en el manejo de los animales entre los estudios pueden influir sobre la respuesta. Por ejemplo, mientras que en el presente estudio las cabras del G10 recibían solo una ordeña por la mañana e interactuaban 10 horas diarias con sus crías desde la primera semana postparto, en el estudio de Marnet y Negrao (Marnet y Negrao, 2000), las ovejas fueron sometidas a dos ordeñas y tres sesiones de

amamantamiento por día, iniciando a la tercera semana de lactancia. Posiblemente, esa mayor exposición a la ordeña indujo que las ovejas se acostumbraran a ese estímulo, induciendo así que la PRL fuera liberada.

En el presente trabajo, durante el amamantamiento, los bajos niveles basales de PRL encontrados en las cabras que interactuaban libremente con sus crías (GC), en comparación con las cabras que se les restringía el período de interacción a 10 ó 5 horas por día, es similar a lo reportado en bovinos (Akers y Lefcourt, 1984; Gordon *et al.*, 1979). Por ejemplo, Gordon *et al.* (1979) encontraron que las vacas a las que se les retira el becerro al día 2 postparto (lo cual corresponde a una restricción total de las crías), cuando son ordeñadas al cuarto día de lactancia, presentan una mayor respuesta de liberación de PRL que las vacas que son ordeñadas pero que continúan interactuando diariamente con sus crías (podían ver, oler, tocar y oír a su becerro, pero no podían amamantarlo; lo cual sugiere una menor restricción). Asimismo, ellos encontraron que los niveles periféricos de PRL a las 0800 y 1700 horas de los días, 3, 4 y 5 postparto fueron mayores en grupo *en ausencia de la cría*, que en el grupo *con cría presente* (pero sin permitir el amamantamiento), lo que indica que posiblemente en el grupo *con cría presente* la percepción de las señales exteroceptivas de sus crías indujo un agotamiento continuo en los niveles de PRL de la adenohipófisis durante la lactancia, debido a la interacción diaria (ver final del párrafo siguiente).

Los elevados niveles de PRL y GH encontrados al momento del amamantamiento en las cabras a las que se les restringió la cría o bien los bajos niveles encontrados en las cabras que interactuaban libremente con sus crías, pueden deberse por una parte, a un efecto a largo plazo del tiempo de contacto madre-cría. Así, en las cabras que interaccionan libremente con sus crías, probablemente los niveles de PRL son agotados de modo continuo debido a la frecuente interacción y amamantamiento. En efecto, tanto en roedores como en rumiantes, está

documentado que existe un período refractario en la liberación de PRL inducida por el amamantamiento continuo (Grosvenor y Mena, 1971b; Karg y Shams, 1974) y en ratas un agotamiento de la PRL de la adenohipófisis debido a la sola percepción de estímulos exteroceptivos de las crías: (señales olfatorias: Mena y Grosvenor, 1971; señales auditivas: Terkel *et al.*, 1979). En cambio, es posible que el agotamiento diario de los niveles de PRL en las cabras que se les restringía diariamente la cría (específicamente en el G5) no fue tan marcada y por ello mostraron niveles elevados basales y al inicio de la estimulación. Lo anterior posiblemente ocurrió con la secreción de GH, aunque al respecto no existe literatura que apoye este argumento. En ratas se ha observado que prolongando el intervalo entre amamantamientos influye sobre la secreción de PRL (Grosvenor *et al.*, 1979). Así, se ha observado que cuando las crías se separan por 2, 4 y 8 horas, y después se colocan con su madre para amamantarse durante 90 min (cambiando otras camadas adoptadas y con hambre a los 30 y 60 min), la tasa de secreción continua de PRL varía en relación directa con el tiempo de separación. La secreción continua decae después de 30 y 60 min de amamantamiento en los grupos separados por 2 y 4 horas. En cambio, la secreción continua de PRL no desciende durante todos los 90 min de amamantamiento en el grupo separado por 8 horas (Grosvenor *et al.*, 1979). Tal vez un mecanismo similar pueda operar en rumiantes, aunque esto no ha sido comprobado. Aún así, es probable que los efectos observados en el presente estudio se deben considerar como efectos a largo plazo, pues en el GC las crías fueron separadas el mismo tiempo que los otros grupos el día que se realizó el muestreo, y en ellas no se aprecia el efecto observado en los grupos restringidos. Otra posible explicación a los elevados niveles observados en las hembras de los grupos restringidos, es que estos puedan deberse a que las crías estén acostumbradas a succionar con una mayor intensidad para compensar por el corto tiempo en el cual pueden hacerlo, debido al tiempo de separación. Al respecto, se puede

mencionar que en la rata se ha observado una tendencia de que las madres succionadas por crías más hambrientas presentan un mayor agotamiento de la PRL en la adenohipófisis (Grosvenor y Mena, 1971a).

Por otra parte, los elevados niveles basales de PRL observados antes de la succión en los grupos restringidos (G5 y G10), podrían deberse a una liberación anticipada de PRL por estímulos exteroceptivos que provienen de las crías (balidos, características visuales; ya que estas señales posiblemente fueron percibidas por la madre antes del muestreo) debido a un condicionamiento establecido por la separación diaria. Por ejemplo, en vacas la sola presencia del becerro puede inducir una elevación de PRL (Perez *et al.*, 1985). Stevenson *et al.* (1994), demostraron que en las vacas mastectomizadas, existe una elevación de PRL y de OT con la percepción de los eventos asociados con el amamantamiento de su becerro. De este modo, los elevados niveles de PRL encontrados en los grupos restringidos antes de la estimulación podrían sugerir que probablemente en cabras, la estimulación táctil de los pezones de la ubre, no es un requisito esencial para inducir la liberación de PRL, contrario a lo que sugirió Hart y Linzell (1977).

Finalmente, no se puede excluir que los elevados niveles de PRL y GH en los grupos restringidos, sean debidos a un estrés por la separación diaria de las crías. En efecto, se ha reportado tanto en rumiantes como en roedores, que estas dos hormonas son liberadas en respuesta a diversos factores estresantes (Grosvenor *et al.*, 1965; Johke, 1970; Harvey y Daughaday, 1995). Sin embargo, se debe tomar en consideración el hecho que si la separación madre-cría indujo algún estrés (lo cual es muy probable), entonces el efecto debió ser mayor en el GC, ya que es en este grupo que las hembras no estaban acostumbradas a estar separadas de sus cabritos.

Conclusiones

El presente estudio demuestra que cuando se reduce el período natural de contacto madre-cría en cabras durante los primeros treinta días de lactancia, y que simultáneamente los animales son sometidos a una ordeña por día, se inducen niveles elevados de PRL y GH tanto antes y durante la estimulación de la ubre.

Este estudio también proporciona evidencia experimental de que, cabras separadas definitivamente de sus crías desde el tercer día de lactancia y sometidas a la ordeña, muestran una liberación de PRL y GH inducida por la ordeña similar a la causada por el amamantamiento en cabras que se permanecen con sus crías. Esto sugiere que durante la lactancia la presencia de la conducta maternal no es un requisito indispensable para la respuesta hormonal al momento de la estimulación de la ubre.

Los elevados niveles de PRL encontrados al momento del amamantamiento en las cabras restringidas posiblemente se deban a una mayor recarga en los niveles de PRL y GH en la adenohipófisis de esos animales. Por otro lado, es posible que la separación diaria induzca un condicionamiento y que las madres puedan responder con una descarga de PRL con la sola percepción de señales auditivas (balidos) de sus crías antes de ser amamantadas.

Estudio 5

Efecto de la selectividad maternal y de la anosmia maternal preparto sobre la liberación de PRL y OT al momento del amamantamiento en cabras lactantes

Introducción

En ovejas y cabras, la conducta maternal se caracteriza por el pronto establecimiento de un vínculo exclusivo entre la madre y su progenie después del parto. Por lo tanto, una vez formado ese vínculo selectivo, la madre acepta amamantar solo a sus crías y rechaza cualquier otra cría extraño que intente amamantarse (Collias, 1956; Hersher *et al.*, 1963). Esta condición es diferente a la observada después del parto en roedores, los cuales no muestran una conducta tan discriminatoria hacia crías ajenas (Beach y Jaynes, 1956; Wiesner y Sheard, 1933). La conducta selectiva observada en cabras y ovejas es principalmente determinada con base a las señales olfatorias emitidas por las crías (Bouissou, 1968; Klopfer y Gamble 1966; Gubernick *et al.*, 1979; Gubernick, 1980; Poindron, 1976a; Porter *et al.*, 1991; Romeyer *et al.*, 1994; Lévy *et al.*, 1996). Aunque en bovinos, también las señales visuales parecen participar de manera importante en este mecanismo de vinculación (Le Neindre y Garel, 1979; Dunn *et al.*, 1987).

En los mamíferos hembras lactantes generalmente la liberación de hormonas de la hipófisis como la PRL, la GH y la OT entre otras, ocurre en respuesta a la estimulación táctil de los pezones al momento del amamantamiento u ordeña (rata: Grosvenor *et al.*, 1986; vaca: Akers y Lefcourt, 1982; oveja: Kann *et al.*, 1977; cabras: Buttle *et al.*, 1972). Sin embargo, en la cabra Hart (1974) sugirió que la PRL puede ser liberada además por estímulos asociados con la rutina de la ordeña y estímulos metabólicos. Asimismo, en la rata Stern y Siegel (1978)

reportaron que esta hormona es liberada en ausencia de la succión. También se ha demostrado que en ratas lactantes, la PRL presente en la adenohipófisis es agotada con la sola exposición de las crías y sin contacto físico después de un período de separación (Mena y Grosvenor, 1971). Estos autores determinaron que el olor de las crías era la principal señal sensorial que inducía esta liberación. Sin embargo bajo ciertas circunstancias, las señales auditivas podrían también participar en este mecanismo de liberación (Terkel *et al.*, 1979; Stern *et al.*, 1984).

En la cabra, aparte de la estimulación táctil de los pezones, no está claro que los estímulos exteroceptivos por sí solos provoquen la liberación de OT. Por ejemplo, McNeilly (1972) reportó que un porcentaje muy bajo de las hembras (2 de 12 que amamantaron ó ninguna en el caso de las ordeñadas) mostró una liberación condicionada de OT debido a los estímulos exteroceptivos provenientes de las crías (características visuales, auditivas u olfatorias) o a la rutina de ordeña. Sin embargo, en ovejas lactantes Fuchs *et al.* (1987) reportaron que la OT puede ser liberada debido a estímulos visuales y auditivos de sus crías antes de la estimulación proporcionada por el amamantamiento.

Existe poca información acerca de la relación entre la selectividad maternal y la fisiología de la lactancia. Posiblemente, eso se debe al hecho que muchos de los estudios sobre la respuesta hormonal durante la lactación son realizados en roedores de laboratorio, los cuales no muestran una conducta maternal tan discriminativa. Los pocos reportes sobre la relación entre la selectividad maternal y la modulación de hormonas galactopoiéticas durante la estimulación táctil de las glándulas mamarias provienen de estudios realizados en vacas. Así, en esta especie Pérez *et al.* (1985) mostraron que el grado de liberación de PRL debido a la estimulación por la ordeña fue significativamente menor que la inducida por el amamantamiento de sus becerros propios, mientras que el amamantamiento por becerros ajenos, no produjo una elevada liberación. Esto sugiere una inhibición de la liberación de la

PRL por el carácter selectivo del vínculo madre-cría. En cuanto a la modulación de la liberación de la OT debido a la selectividad maternal, Silveira *et al.* (1993) encontraron que pocas son las hembras que liberan consistentemente OT cuando se les obliga amamantar a un becerro ajeno forzosamente. En cambio, el 100 % de las vacas que amamantan a su becerro liberan consistentemente OT.

Sin embargo en la cabra, especie que desarrolla una conducta selectiva con base a las señales olfatorias provenientes de las crías, aun no se ha investigado el efecto de la selectividad maternal sobre la liberación de PRL y OT durante el amamantamiento.

Objetivo

Investigar, el papel de la selectividad maternal sobre la liberación de PRL y OT al momento del amamantamiento en la cabra.

Hipótesis

Las cabras anósmicas / no selectivas liberan consistentemente PRL y OT al momento del amamantamiento por su camada o por una camada ajena. En cambio, las cabras intactas / selectivas solo responden cuando amamantan a su progenie y no así cuando amamantan a una camada extraña.

Materiales y Métodos

Animales

Se utilizaron 10 cabras intactas y sus crías (GI) y 10 cabras anósmicas y sus crías (GA). Todas las cabras utilizadas fueron de la raza Criolla y en cada grupo 7 cabras amamantaron a dos cabritos, mientras que tres cabras en cada grupo amamantaron a una cría. El GI se conformó de 5 cabras primíparas y 5 cabras múltiparas, en tanto que el GA se conformó de 6 cabras primíparas y 4 múltiparas. La anosmia en las hembras del GA se realizó mediante la irrigación intranasal de una solución de ZnSO₄ al 1.5 % según técnica empleada por Romeyer *et al.*

(1994) y descrita detalladamente en el apartado materiales y métodos generales. Asimismo, la deficiencia olfatoria se confirmó al día 30 de lactancia mediante una prueba conductual de elección de alimento descrita también en materiales y métodos generales. Asimismo, para asegurar que la anosmia indujo una ausencia de la conducta selectiva, se realizó una prueba de selectividad maternal a las 24 horas postparto (ver material y métodos generales).

Manejo

Hasta el parto todas las cabras estuvieron alojadas en un solo grupo; después de este, las madres y sus crías fueron puestas en corrales individuales (2 x 2 m), los cuales estaban provistos con sombra y en donde ellas tenían libre acceso al agua. Los animales fueron alimentados con heno de alfalfa, grano y minerales de acuerdo al tamaño de camada y sus requerimientos nutricionales (NRC, 1981).

Muestreo Seriado de Sangre a los 37 días de lactación

Este se realizó en el corral individual en donde normalmente interactuaba la madre con su (s) cría (s) según la técnica descrita en el estudio 4. Todos los muestreos sanguíneos fueron realizados por las mañanas iniciando entre las 0800 y las 1100 horas del día y fueron realizados por las mismas personas. En cada ocasión dos horas antes de iniciar el muestreo los cabritos usados (propios o ajenos) fueron separados de sus madres y se pusieron en un corral distante al de la madre, fuera de la vista de aquella. Sin embargo, no se pudo evitar que las madres escucharan posiblemente los balidos emitidos por las sus crías. El muestreo con su (s) cría (s) o con la (s) cría (s) extraña (s) se realizó en dos días consecutivos y se aleatorizó el orden de muestreo para los dos tipos de cría (propia vs extraña). La primera muestra se colectó a 3 minutos antes del inicio del amamantamiento. Al minuto -2 antes del inicio del amamantamiento, se tomó la segunda muestra y se colocaron las crías frente a la cabra. La tercera muestra se tomó después de un minuto de permanecer las crías enfrente de la cabra, esa

muestra correspondió a -1 minuto antes del amamantamiento controlado. Al tiempo 0 se tomó la cuarta muestra e inmediatamente se colocaron la (s) cría (s) para amamantarse. Después de iniciado el amamantamiento las muestras se colectaron a 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 4.0, 6.0, 10.0, 15.0, 20.0 y 30.0 minutos después de iniciado el amamantamiento, el cual duró 2 minutos. En el caso de cabras con dos crías, ambas fueron usadas para la estimulación y asimismo se usaron dos crías extrañas para la estimulación con extraños. La cantidad de sangre colectada en cada muestra fue de 5 o 10 ml, dependiendo de si se iba a medir las dos hormonas o solamente la OT en aquella muestra. Cada muestra sanguínea fue colectada con diferente jeringa y después la sangre se colocó en tubos identificados que contenían heparina sódica. Los tubos se mantuvieron en una hielera durante el muestreo, y al final de este, los tubos fueron centrifugados a 4000 r.p.m. a una temperatura de 4° C. Posteriormente, el plasma fue almacenado a una temperatura de -20 ° C hasta que se realizaron las determinaciones hormonales.

Ensayos Hormonales

Las concentraciones plasmáticas de PRL fueron determinadas por RIA de acuerdo al método descrito por Kann, (1971). El límite de detección para la PRL fue de 1.24 ng/ml. Los coeficientes de variación íter e intraensayos, fueron de 4.5 % y 12.6 % en 1.36 ng/ml. Los niveles plasmáticos de OT fueron ensayados por inmunoensayo enzimático de acuerdo al método descrito por Marnet *et al.* (1994). El umbral de detección para la OT fue de 1.5 pg/ml. Los coeficientes de variación íter e intraensayos, fueron de 13 % y 8.6 % en 4 pg/ml.

Producción de leche al día 30 de lactación

En ambos grupos, la producción de leche se estimó al día 30 de lactancia durante un período de 24 horas, usando el método de la diferencia de peso de la cría antes y después de amamantarse (Ricordeau, *et al.*, 1960). En cada ocasión a las cabras se les realizó un primer

vaciado de las glándulas mamarias antes de iniciar las mediciones (a las 6 de la tarde del día anterior), seguido de tres amamantamientos controlados en el siguiente día a las 0800, 1300 y 1800 horas. Después de cada amamantamiento controlado, se administraron por vía endovenosa 2 UI de OT exógena, seguido de una ordeña manual con el fin de obtener toda la leche contenida en las glándulas. Dicha cantidad de leche se anexó a cada medición correspondiente. Los detalles del procedimiento se muestran en la tabla 6. La cantidad total de leche obtenida en 24 horas se calculó sumando las cantidades obtenidas durante las mediciones de las 0800 a las 1800 horas del siguiente día.

Tabla 6. Método para la estimación de la producción de leche.

Hora del día			
1800	0800	1300	1800
Amamantamiento y separación de los cabritos Vaciado de la ubre + 2 UI de oxitocina y ordeña a mano	Amamantamiento y pesaje + 2 UI de oxitocina y ordeña a mano ↓		
	Mediciones usadas para estimar la producción de leche		

Análisis Estadístico

Como los datos de PRL mostraron una distribución normal, se utilizaron los procedimientos de estadísticas paramétricas (More y McCabe, 1989). En el caso de los niveles de OT, estos datos fueron aproximados a una distribución normal mediante la transformación a logaritmos. Así, en ambos casos se utilizó una MANOVA para medidas repetidas a tres factores (grupo, tiempo de muestreo e identidad de la cría) para detectar los efectos generales. Además, el efecto de la identidad de la cría en cada grupo fue analizado mediante un MANOVA para medidas repetidas a dos factores tiempo de muestreo e identidad de la cría. La producción de leche se comparó mediante una prueba de *t* de student para dos grupos. Todos los análisis

estadísticos fueron realizados utilizando el paquete estadístico Systat 7.0 (SPSS, Chicago). Los resultados son expresados en promedio \pm error standard del promedio (SEM).

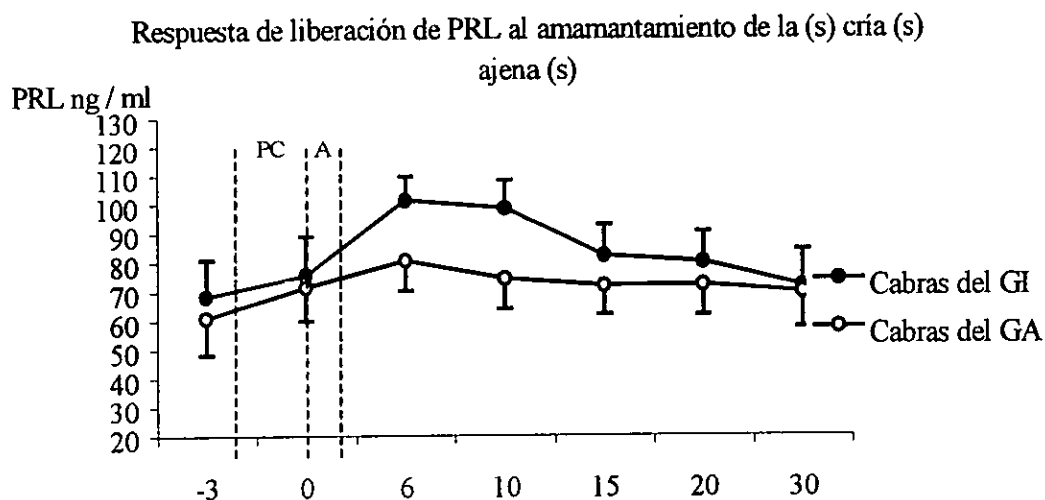
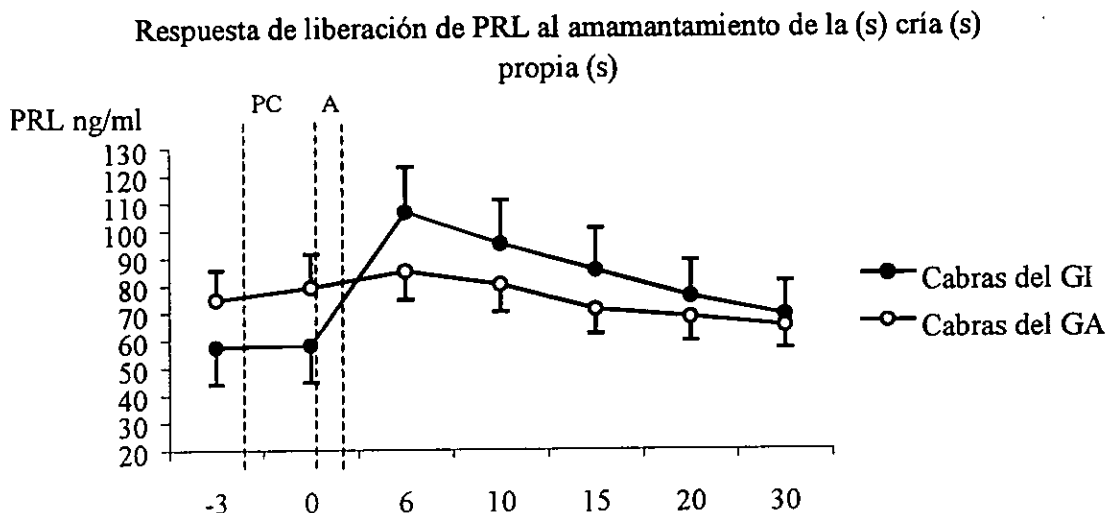
Resultados

Liberación de PRL

No se encontraron diferencias significativas entre los niveles antes de la presentación de la (s) cría (s) propias o ajenas en cada grupo, o entre las propias y las extrañas entre grupos ($p > 0.05$ en ambos casos). Asimismo, en ningún caso existió una anticipación en la liberación de esta hormona debido a la sola presencia de las crías. En efecto, los niveles basales de PRL no mostraron un incremento significativo después de exponer la (s) cría (s; $p > 0.05$, en todos los casos; figura 21). Durante el amamantamiento sin embargo, las cabras de ambos grupos muestran un incremento en los niveles de PRL e independientemente de la identidad de la cría que amamantaron. Efectivamente no existió un efecto de la identidad de la cría, ni tampoco una interacción entre el grupo y la identidad de la cría ($p > 0.05$ en ambos casos). Sin embargo, se encontró un efecto general de la anosmia sobre la amplitud de liberación de esta hormona ($p < 0.05$; figura 21). Efectivamente, en las madres intactas cuando amamantaron a su (s) propia (s) cría (s) el nivel de PRL se incrementó de 57.4 ± 13.4 ng/ml de plasma antes de la succión a 106.3 ± 16.7 ng/ml a 6 minutos post-estimulación. Similarmente, en este mismo grupo, cuando a las madres se les forzó amamantar a la (s) cría (s) ajena (s), este nivel se incrementó de 68.1 ± 12.8 ng/ml a 101.2 ± 8.4 ng/ml, respectivamente. Por otro lado, en las cabras anósmicas el nivel durante el amamantamiento a sus propias crías solo pasó de 74.5 ± 11.0 ng/ml pre-estimulación a 85.0 ± 10.2 ng/ml a 6 minutos post-estimulación. En este mismo grupo, cuando las cabras amamantaron a crías ajenas, esos niveles solo variaron de 60.7 ± 12.5 ng/ml a 80.3 ± 10.1 ng/ml, respectivamente.

Liberación de OT

Con relación a los niveles basales obtenidos en las cabras intactas, cuando se compararon los registrados antes del muestreo con su (s) cría (s) o con una (s) cría (s) ajena (s) se encontró una tendencia ($p=0.055$) a que los niveles fueran mayores con su (s) cría (s; 34.5 ± 13.7 pg/ml) que con la (s) cría (s) extraña (s; 14.7 ± 1.8 pg/ml). De igual manera, al comparar los niveles basales entre grupos cuando se muestreó con la (s) propia (s), se detectó una tendencia de ser mayor en el grupo intacto que en el anósmico (34.5 ± 13.7 pg/ml vs 16.0 ± 1.7 pg/ml, respectivamente). Sin embargo, al igual que la PRL, no se encontró una anticipación en la liberación de OT debido a la sola presencia de cualquier tipo de la (s) cría (s; propias o ajenas; figura 22) después de una separación de 2 horas. Al momento del amamantamiento sin embargo, en las cabras intactas la liberación de OT fue modulada debido a la selectividad maternal, mientras que en las cabras anósmicas la respuesta no difirió significativamente debido a la identidad de la cría. Así, en el análisis general el MANOVA reveló un efecto global del tiempo de muestreo ($p<0.001$), de la identidad de la cría ($p<0.05$) así como una interacción significativa tiempo de muestreo x identidad de la cría ($p<0.001$). También cuando se comparó entre grupos la respuesta obtenida por la succión de la (s) propia (s) cría (s) se encontró una tendencia a que la amplitud de liberación de esta hormona fuera mayor en intactas que en anósmicas ($p=0.088$). Así, en el grupo de cabras intactas, cuando amamantaron a su (s) cría (s) los niveles de OT se incrementaron de 34.5 ± 13.8 pg/ml antes de la estimulación a 62.3 ± 11.2 pg/ml a 1 minuto post-estimulación. Sin embargo, cuando las madres amamantaron a



Tiempo antes durante y después de la presencia de la cría y de la estimulación de la ubre (min)

Figura 21. Evolución promedio (\pm sem) de los niveles plasmáticos de PRL obtenidos en respuesta al amamantamiento a su (s) propia (s) cría (s; panel superior) o al amamantamiento a la (s) cría (s) ajena (s; panel inferior), en las cabras del GI y del GA. Las siglas PC indican la presencia de las crías sin amamantamiento. La A es el tiempo de amamantamiento. El análisis general reveló una interacción significativa tiempo de muestreo \times grupo (MANOVA; $p < 0.05$) sobre estos niveles. Aunque en el gráfico parece distinto, el tiempo de PC y A fue el mismo (2 min).

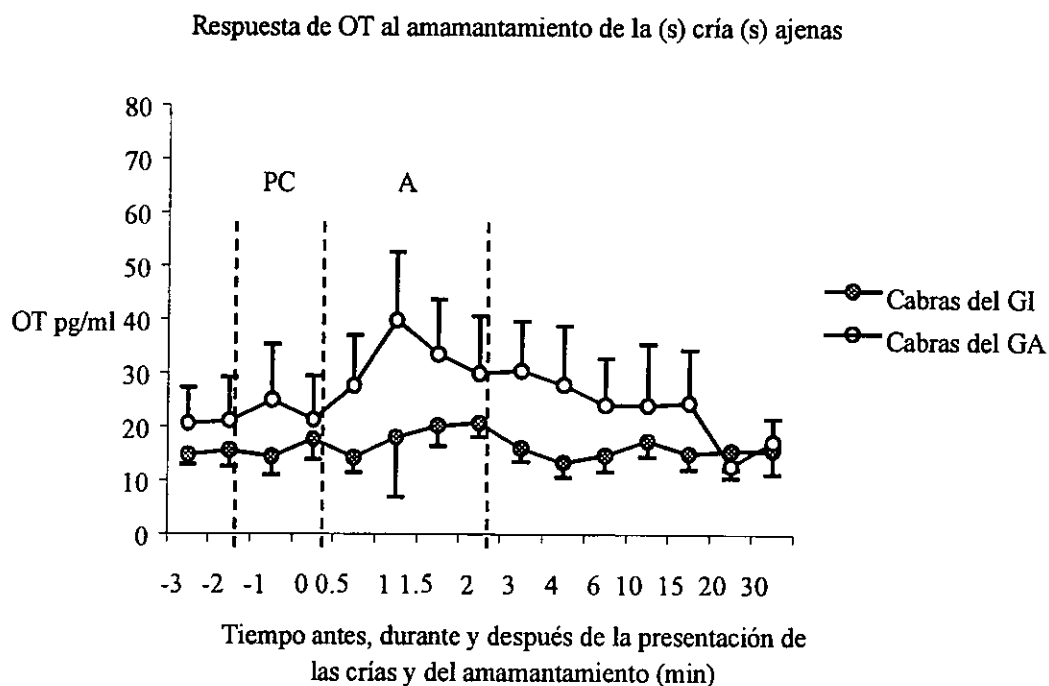
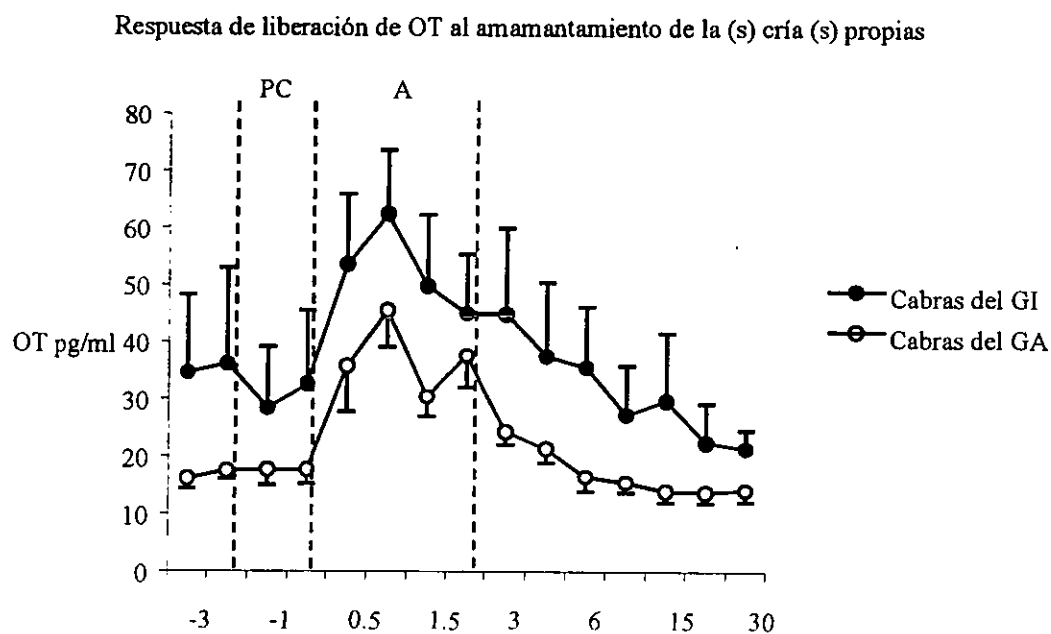


Figura 22. Evolución promedio (\pm sem) de los niveles plasmáticos de OT en respuesta al amamantamiento a su (s) propia (s) cría (s; panel superior) o al amamantamiento a la (s) cría (s) ajena (s) (panel inferior), en las cabras del GI y del GA. Las siglas PC indican la presencia de las crías sin amamantamiento. La A es el tiempo de amamantamiento. La comparación de la respuesta por las propias crías revela una tendencia al efecto grupo (MANOVA, $p=0.088$). Aunque en el gráfico parece distinto, el tiempo de PC y A fue el mismo (2 min).

crías ajenas estos niveles solo pasaron de 14.7 ± 1.8 pg/ml a 18.0 ± 11.0 pg/ml, respectivamente (figura. 22). Por otra parte, en las cabras anósmicas (no selectivas) no se detectó un efecto principal de la identidad de la cría ($p > 0.1$). Por consiguiente, los niveles durante el amamantamiento a sus propias crías se incrementaron de 16.0 ± 1.7 pg/ml a 45.4 ± 6.3 pg/ml a 1 minuto post-estimulación. Similarmente, en este grupo cuando las crías ajenas fueron amamantadas los niveles basales de OT se incrementaron de 20.4 ± 6.8 pg/ml a 39.8 ± 12.8 pg/ml a 1 minuto post-estimulación.

Producción de leche a los 30 días de lactancia

La producción promedio de leche en un período de 24 horas en las cabras del GI (1.7 ± 0.2 kg) no difirió significativamente de la obtenida en las cabras del GA (1.9 ± 0.3 kg; $p > 0.05$; prueba de *t*).

Discusión

El presente estudio demuestra que las señales olfatorias implicadas en el reconocimiento individual de las crías, pueden también modular la liberación de OT, pero no de PRL al momento del amamantamiento selectivo. Asimismo, estos resultados sugieren que la percepción de las señales olfatorias de las crías facilita la liberación de estas hormonas durante el amamantamiento, independientemente del papel para el reconocimiento individual de dichas señales. Además, los resultados del presente estudio indican que la capacidad de las cabras para producir leche no es modificada debido a la anosmia, al menos durante el primer mes de lactancia.

En ambos grupos, después de iniciado el amamantamiento por la (s) cría (s) propia (s) o ajena (s) los niveles de PRL se incrementan en las muestras tomadas a 6 minutos. Estos resultados concuerdan con lo reportado previamente en esta misma especie y que muestra que el amamantamiento es un estímulo capaz de inducir la liberación de PRL (Bryant y Greenwood,

1968; Buttle *et al.*, 1972). Similarmente, la elevación en los niveles de PRL registrada en el presente estudio al momento del amamantamiento concuerda con lo reportado en las ovejas lactantes cuando amamantan a sus corderos (McNeilly, 1972; Lamming *et al.*, 1974). Por otro lado, los niveles de PRL obtenidos en las cabras del presente estudio son menores a los reportados en las cabras British Sanen que son ordeñadas mecánicamente durante la primavera (Hart, 1975a). Sin embargo, esta diferencia es probablemente debida principalmente a la estación del año en que se realizaron los muestreos (Hart, 1975b). Por ejemplo, esas mismas cabras muestran niveles similares a los del presente estudio, cuando los muestreos son realizados en octubre, noviembre y diciembre. De esos estudios se concluyó que la duración del día es el factor predominante que gobierna los cambios en la cantidad de PRL liberada en la ordeña durante el año. Otro factor importante que posiblemente este implicado en esta diferencia es la paridad de los animales, ya que en el presente trabajo, al menos un 50 % de las cabras en ambos grupos fueron primíparas, en tanto que en los estudios de Hart (Hart, 1975ab) los animales utilizados fueron todos múltiparos. Sin embargo, recientemente en las ovejas Lacaune que fueron ordeñadas mecánicamente Negrao (1996), reportó que la intensidad de la liberación de PRL durante la ordeña no fue diferente en los mismos animales durante la primera y segunda lactación. Lo anterior sugiere que al menos durante la ordeña, la PRL no es modulada por la experiencia adquirida en un ciclo anterior de lactación.

En el presente estudio, no existió evidencia de que la sola presencia de las crías (extrañas o propias) por si misma pueda haber inducido una liberación de PRL. Esto concuerda con lo obtenido en reportes anteriores en los cuales, los estímulos asociados con la rutina de ordeña no parecen inducir una liberación condicionada de PRL (Hart, 1977). Sin embargo, esos resultados no permiten excluir que exista algún condicionamiento en la descarga de la PRL en relación con el amamantamiento. Posiblemente, en el presente trabajo la ausencia de respuesta

debido a la sola presencia de la cría sea debida en parte al pequeño tiempo de separación madre-cría (2 h). De hecho, en el estudio anterior en cabras Alpinas se encontró que cuando se restringe el período diario de interacción madre-cría a 5 ó 10 horas / día, durante los primeros 30 días de lactación existe un efecto a largo plazo sobre la descarga de PRL al momento del amamantamiento. Así, los niveles basales de PRL antes del amamantamiento en los grupos restringidos fueron significativamente mayores que en las cabras que tenían libre acceso con sus crías (Hernández *et al.*, 1999), lo cual podría ser el resultado de una anticipación en la liberación debida a la percepción de estímulos exteroceptivos. En vacas, Pérez *et al.* (1985) encontraron que la liberación de PRL puede ser inducida con la sola presencia de la cría. También en vacas mastectomizadas Stevenson *et al.* (1994) mostró que cuando se aísla el becerro de su madre durante toda la noche, y después se devuelve con su madre al siguiente día, las madres liberan PRL con la sola percepción de los eventos asociados con el amamantamiento aunque este como tal no ocurre.

En el presente estudio, independientemente de la identidad de las crías, tanto las cabras selectivas como las no selectivas tienen una respuesta de liberación de PRL. Estos resultados y aquellos obtenidos por Silveira *et al.* (1993) no concuerdan con los reportados por Pérez *et al.* (1985) quienes encontraron que la intensidad de la liberación de PRL es modulada por la selectividad maternal. En efecto, ellos reportaron que la liberación de PRL durante la ordeña o durante el amamantamiento a una cría extraña fue débil o ausente. En cambio, el amamantamiento a sus propios becerros indujo un incremento sustancial en los niveles de PRL. Posiblemente, como lo sugirió en becerros Silveira *et al.* (1993), en el presente estudio, la intensidad de la estimulación (actividad oral) producida por los cabritos ajenos fue mayor al momento del amamantamiento controlado, la cual a su vez indujo un incremento en los niveles de PRL. En efecto, la intensidad de la estimulación de la ubre es un factor efectivo

para la liberación de PRL (Karg y Shams, 1974; Reinhardt y Shams, 1974). Sin embargo, el análisis de los perfiles de OT indican que aún suponiendo una estimulación mayor por parte de las crías ajenas, puede existir una inhibición eficaz de la liberación de las hormonas hipofisiarias en madres intactas.

En el presente trabajo, la amplitud de liberación de PRL en cabras anósmicas fue menor que en las cabras intactas. Ello pudo ser debido a una pobre estimulación olfatoria. Por ejemplo, en la rata lactante se conoce que existe una liberación de PRL debida a la percepción de las señales exteroceptivas provenientes de las crías. El olor de las crías es la señal principal que induce esa liberación, pues cuando ese sentido es bloqueado solo o en combinación con otro sentido, los niveles de PRL en la pituitaria no cambian debido a la sola exposición de las crías (Mena y Grosvenor, 1971). Sin embargo, en esa especie las vocalizaciones podrían también actuar como un estímulo para la liberación de PRL y se ha sugerido en roedores, que tal comunicación puede tener un papel en el mantenimiento de la lactación (Terkel *et al.*, 1979).

Concerniente a la liberación de OT, en este estudio el nivel basal en el grupo selectivo tendió a ser mayor antes del muestreo con su propia cría que antes del muestreo con las crías ajenas. Sin embargo, esa diferencia se debe a que una cabra mostró un nivel basal bastante elevado (143 pg/ml) antes de presentarle la cría o de recibir el estímulo del amamantamiento, lo cual no sucedió en el resto de las cabras. En este estudio, no existió una evidencia de que la sola presencia de la cría pueda por si misma inducir una liberación de OT, ya que los niveles de hormonas no mostraron ninguna variación antes de que inicie el amamantamiento. En cambio, existe ya un incremento significativo de los niveles de OT a 1 minuto de iniciado el amamantamiento por la propia camada en las cabras selectivas, o por la camada propia o ajena, en las cabras no selectivas. Este resultado concuerda con lo reportado anteriormente en esta misma especie por McNeilly (1972) quien encontró que pocas cabras (2 de 12) muestran

una liberación de OT antes del amamantamiento debido a la percepción de los estímulos exteroceptivos provenientes de las crías (características visuales, auditivas u olfatorias). Asimismo, y aunque existió una amplia variabilidad en el patrón de liberación de OT, existió un incremento significativo de esta hormona después de que los amamantamientos experimentales iniciaron (a aproximadamente 1 min post-amamantamiento; McNeilly, 1972). Asimismo, los resultados presentes son en parte similares a los reportados en ovejas por Fuchs *et al.* (1987), quienes encontraron que los niveles pico de OT fueron normalmente observados en las muestras tomadas a 1 min post-amamantamiento. Sin embargo, estos autores encontraron que las ovejas liberan OT con la sola percepción de a estímulos visuales y auditivos de sus crías antes de la estimulación proporcionada por el amamantamiento, al contrario de lo que encontramos en el presente estudio. Posiblemente, esta discrepancia puede ser debida a que los protocolos de muestreo en el estudio de Fuchs *et al.* (1987) se realizaron entre el día 1 a 15 postparto, mientras que en el presente trabajo se realizaron hasta el día 37 de lactancia. En ratas por ejemplo, al menos la modulación de la liberación de PRL debido a la percepción de señales exteroceptivas de las crías depende del estado de lactancia y de la paridad de los animales (Grosvenor *et al.*, 1991).

En el presente trabajo, la comparación de la respuesta de OT obtenida en las cabras del GI succionadas por las propias crías y por las crías ajenas, muestra que la liberación de OT es modulada por la selectividad maternal. Esta variación en la respuesta de OT debido a la selectividad maternal es similar a lo reportado en la oveja sobre la liberación de neurotransmisores en respuesta al olor de los corderos. En efecto, Kendrick *et al.* (1992a) mostraron que cuando las madres han establecido un lazo selectivo con sus propias crías, el olor de sus crías pero no el de crías ajenas incrementa la liberación del aminoácido excitatorio glutamato y del neurotransmisor inhibitor ácido gama-aminobutírico (GABA). Mientras que

ambos olores (de sus crías o de crías ajenas), incrementan la liberación de acetilcolina y noradrenalina. Ellos sugirieron que acetilcolina y noradrenalina son importantes para la identificación de un olor general de los corderos, mientras que glutamato y GABA son implicados en el reconocimiento selectivo de la cría. Aunque se conoce que el glutamato facilita la secreción de las neuronas oxitocinérgicas durante la succión, y los reportes de la participación del GABA sobre la secreción de OT durante la succión son paradójicos (Wakerley, 1999), esos reportes concuerdan con el incremento de OT durante la succión dependiendo de la identidad de la en la presente tesis. Sin embargo, en la cabra se desconoce si existe una relación entre esa liberación neuroquímica en el bulbo olfatorio y la secreción de OT durante el amamantamiento en función de la selectividad.

Nuestros resultados, están en acuerdo con los obtenidos en las vacas productoras de carne, en las cuales se observó que la proporción de madres que liberaron de manera consistente oxitocina después del amamantamiento fue mayor en las vacas que amamantaron a sus propios becerros, que en aquellas que se les forzó amamantar a un becerro ajeno (Silveira y Williams, 1991; Silveira *et al.*, 1993). A este respecto, en el presente trabajo, los resultados obtenidos en las cabras del GA sugieren que posiblemente esas madres no identifican totalmente a sus crías al no percibir las señales olfatorias, y ellas también responden cuando las crías ajenas son amamantadas. En cambio, las cabras selectivas / intactas solo liberan OT cuando sus propias crías fueron amamantadas y no con las crías ajenas. Lo anterior podría tal vez influir en la cantidad de leche obtenida por las crías durante el amamantamiento, aunque se conoce que en esta especie la salida de la leche puede ser obtenida pasivamente de las cisternas glandulares sin la participación de la OT. Sin embargo, en el presente trabajo esto no fue evaluado, por lo que se sugiere verificar ese aspecto. Estos resultados son opuestos a los reportados en roedores. Por ejemplo, en ratas Grosvenor *et al.* (1986) mostraron que éstas son capaces de

liberar OT en respuesta a una camada ajena, después de que su camada original fue amamantada. Esto puede explicarse por el hecho que estas especies no muestran una conducta tan discriminatoria hacia sus propias crías (Beach y Jaynes, 1956; Wiesner y Sheard, 1933) y por ello, es de esperarse que ambas camadas puedan inducir una descarga de oxitocina.

Como se mencionó anteriormente, las señales olfatorias son las principales señales sensoriales implicadas en el amamantamiento selectivo en esta especie (Romeyer *et al.*, 1994a). Por consiguiente, en ausencia de señales olfatorias las cabras no muestran selectividad durante el amamantamiento, mientras que la percepción de señales olfatorias no familiares induce el rechazo de la cría ajena en madres intactas (Poindron y Le Neindre, 1980). En la oveja, se ha encontrado que la oxitocina puede ser liberada en los bulbos olfatorios durante el parto, la estimulación vaginocervical y el amamantamiento. (Kendrick *et al.*, 1988ab). Además, en esta especie se ha evidenciado que la oxitocina liberada en el cerebro influencia el reconocimiento olfatorio de las crías (Keverne *et al.*, 1983; Lévy *et al.*, 1996). Por lo que posiblemente la liberación de OT al momento del amamantamiento podría tener un papel reforzador en el reconocimiento de las crías durante etapas posteriores de la lactancia, aunque los mecanismos precisos no se conocen.

Al igual que en la PRL, en el presente estudio se observó que la amplitud en la respuesta de oxitocina tendió a ser menor en cabras anósmicas que en cabras intactas. A este respecto, se ha sugerido que como en ratas el núcleo supraóptico (uno de los principales centros de síntesis de oxitocina) recibe vías aferentes del bulbo olfatorio principal, posiblemente este podría influenciar su fisiología y por consiguiente tener algún efecto sobre la liberación de oxitocina (Smithson *et al.*, 1989; Modney *et al.*, 1990).

En el presente estudio la producción de leche no fue modificada debido a la anosmia. Este resultado es similar a lo encontrado en las ovejas no selectivas (Hernandez *et al.*, 2001). Sin

embargo, este resultado es opuesto a lo reportado en bovinos, en los cuales la anosmia y el bloqueo de la percepción de las señales visuales de sus becerros indujo desde una disminución hasta un cambio negativo en el nivel de producción de leche (Griffith y Williams, 1996). En nuestras cabras anósmicas, la secreción de PRL y OT se mantuvo, aunque la amplitud de liberación de ambas hormonas durante el amamantamiento fue menor. Posiblemente, esta liberación, aún reducida, bastó para que la producción de leche no disminuyera, especialmente tomando en cuenta el hecho que la frecuencia de amamantamiento no fue afectada en esas madres (resultados del estudio 2). En efecto, se ha comprobado en esta especie que el bloqueo de la secreción de PRL y de OT durante la lactancia no afecta de manera significativa la secreción y la evacuación de leche, respectivamente (Cowie y Tindal, 1969; Hart, 1973). En cambio, el frecuente vaciamiento de las glándulas mamarias puede tener efectos benéficos sobre la producción de leche (Wilde y Peaker, 1990; Peaker y Wilde, 1996).

Conclusiones

Los resultados del presente estudio permiten concluir que en cabras, la conducta selectiva de la madre puede modular la liberación de OT periférica, pero no de PRL durante el amamantamiento.

Las señales olfatorias individuales de los cabritos, pueden disminuir o estimular la liberación de OT de la neurohipófisis. La liberación de esta hormona en animales intactos durante el amamantamiento de su progenie, posiblemente participa en reforzar el reconocimiento de las crías durante etapas ulteriores de la lactancia, aunque los mecanismos precisos no se conocen.

Asimismo, se concluye que la anosmia ejerce un efecto general sobre la amplitud de liberación de PRL y de OT durante el amamantamiento, sin embargo se desconoce el mecanismo preciso de esta modulación.

Estudio 6

Efecto del bloqueo de la selectividad maternal mediante una anosmia sobre la duración del período de inactividad sexual postparto en la cabra

Introducción

En varias especies mamíferos, la relación madre - cría es uno de los factores que más efecto tiene sobre la actividad sexual postparto (Vicker *et al.*, 1993). Un componente bien documentado, que influye sobre el reinicio de la ciclicidad sexual postparto es el amamantamiento de las crías (McNeilly *et al.*, 1994). En las ovejas, varios estudios señalan que la conducta del amamantamiento inhibe el reinicio de la actividad sexual durante el período postparto (Lahulou-Kassi *et al.*, 1989; Gordon y Siegmann, 1991). Una elevada actividad del amamantamiento durante las primeras semanas de lactancia, retarda el reinicio de la actividad sexual postparto (Fletcher, 1971; Louault, 1983). Por ejemplo, el estudio de Fletcher (1971) demuestra que existe una correlación positiva entre la frecuencia de amamantamiento registrada durante las dos primeras semanas de lactancia y la duración del período de inactividad sexual postparto, ($r = 0.48$; $P < 0.01$). Esta relación indica que las ovejas que amamantan con más frecuencia a sus corderos, tendrán también un anestro postparto más prolongado. Por el contrario, cuando a las ovejas se les destetan los corderos poco después del parto, y que posteriormente son sometidas a la ordeña, estas retornan al celo más rápido que las hembras que permanecen amamantando a sus crías (Mauléon y Dausier, 1965). En las cabras se han reportado efectos similares: por ejemplo, Aguilar *et al.* (1997) reportaron que en las cabras de la Comarca Lagunera que paren durante el período natural de reproducción, el período de anovulación postparto está correlacionado positivamente con la frecuencia del

amamantamiento ($r = + 0.83$) y con el tiempo total del amamantamiento ($r = + 0.82$) durante la tercera semana de lactación. Esto indica que al igual que en ovinos, las cabras que amamantan con más frecuencia e intensidad a sus crías, tienen un período de inactividad sexual más prolongado. Sin embargo, los efectos del amamantamiento en esta especie pueden ser modificados según la época del año en que ocurren los partos, pues el anestro estacional interfiere en su efecto (Delgadillo *et al.*, 1997; 1998). Por ejemplo, mientras que durante el período natural de reproducción (octubre), se han reportado efectos inhibitorios de la conducta de amamantamiento sobre la duración del anestro postparto (Aguilar *et al.*, 1997), existe una ausencia de tales efectos cuando las cabras paren en mayo (Hernández *et al.*, 1995).

Recientemente, en rumiantes, se ha comenzado a investigar otro postulado de esta inhibición, el cual propone que como la madre forma un lazo exclusivo con su camada en esta especie, entonces las meras relaciones exclusivas entre éstos dos, influyen sobre el período de inactividad sexual postparto de la madre (Vicker *et al.*, 1993; Silveira *et al.*, 1993). Por ejemplo, Silveira *et al.* (1993) demostraron que las vacas que se les forzó amamantar a becerros no propios, no presentan un largo período de anovulación, al contrario de las vacas que amamantan a sus propios becerros. Además, se ha determinado en los bovinos que las señales sensoriales proporcionadas por los becerros, como el olor del becerro y las características visuales de éste (señales necesarias para su identificación) son factores importantes en el mecanismo de esta inhibición. Al respecto, Griffith y Williams (1996) demostraron en las vacas intactas, que el amamantamiento hacia becerros extraños ocasionó que se incrementara la secreción de las hormonas que disparan la ciclicidad sexual como lo es la hormona luteinizante (LH). Además, encontraron que en las vacas que permanecieron anósmicas y que no podían ver (es decir, que posiblemente no formaron un vínculo selectivo con un becerro) y que amamantaron a su propio becerro o a un becerro extraño, también el

patrón de secreción de la LH se incrementó. Estos autores, concluyeron que el efecto inhibitor del amamantamiento sobre la actividad ovárica postparto, es sostenido únicamente con la presencia de señales olfatorias y visuales de su propio becerro, en otros términos que depende de la presencia de un vínculo materno selectivo.

Las cabras muestran también un amamantamiento selectivo con su propia camada, el cual se establece mediante las señales olfatorias provenientes de las crías (Romeyer *et al.*, 1994a). Sin embargo, en estos pequeños rumiantes no se conoce si la existencia de un vínculo selectivo o sí la ausencia de este vínculo, ocasionada por destruir el sentido olfatorio en la hembra antes del parto, puedan influir sobre la duración del anestro postparto.

Objetivo

El presente estudio fue realizado para determinar si el bloqueo de la selectividad maternal mediante una anosmia podría reducir la duración del anestro postparto en las hembras madres de esta especie.

Hipótesis

Como la existencia de un vínculo selectivo en vacas inhibe el reinicio de la actividad sexual postparto, es posible que si en la cabra se bloquea este vínculo mediante una anosmia, el reinicio de la actividad sexual será más pronto que en las cabras selectivas (intactas).

Material y Métodos

Lugar del estudio

El estudio se llevó a cabo entre mediados del mes de Octubre de 1998 y inicios de Febrero de 1999; en el rancho experimental del Centro de Neurobiología, UNAM, localizado en la Unidad Pecuaria de la Escuela de Medicina Veterinaria perteneciente a la Universidad Autónoma de Querétaro. Dicha unidad se encuentra localizada en el municipio de El Marqués,

en el estado de Querétaro. Este lugar se encuentra localizado a una latitud de 20° norte, y a una altitud de 1850 msnm.

Animales, manejo durante la gestación y al parto

Para este estudio se utilizaron 42 cabras Criollas, a las cuales se les sincronizó su reproducción mediante el procedimiento descrito en materiales y métodos generales; de esta manera, la ocurrencia de los partos se concentró durante la segunda quincena de octubre. Con el fin de evitar el establecimiento de un vínculo selectivo al parto, a 18 de ellas, se les practicó una anosmia periférica a un mes antes del parto y se les repitió a tres semanas antes del mismo (grupo no selectivo; GNS). La anosmia fue realizada utilizando una solución de sulfato de zinc al 1.5 % ($ZnSO_4$ al 1.5 %), según la técnica descrita es en esta misma especie por Romeyer *et al.* (1994a; la cual se detalla en el apartado material y métodos generales de la presente tesis). La efectividad de la anosmia fue comprobada a los 1, 30 y 75 días postparto, según el método descrito en el apartado de materiales y métodos generales de la presente tesis. Los otros 24 animales permanecieron intactos (grupo selectivo GS). Para asegurarse que la anosmia fue asociada con una ausencia de selectividad al amamantamiento, las cabras fueron probadas en su habilidad para aceptar un cabrito extraño a las 24 horas postparto según método descrito en el apartado de Material y Métodos Generales.

La fecha promedio del parto (\pm sem) en el GS fue el 17 de octubre de 1998 \pm 1.0 días. En el GNS la fecha promedio del parto fue el 16 de octubre de 1998 \pm 1.0 días. Al parto, las crías y sus madres fueron alojadas en un corral individual durante las primeras 4 horas postparto. Posteriormente, a las crías se les desinfectó el ombligo, se pesaron y fueron identificadas con un arete de plástico. Diez animales en cada grupo permanecieron alojados junto con su (s) cría (s) en corrales individuales de 2 x 2 m, con el fin de estimar la conducta de amamantamiento (resultados del estudio 2, fase I). Los animales y sus crías restantes permanecieron todos

juntos en su corral respectivo. Tanto los corrales individuales como los corrales comunes estaban provistos con sombra. Durante el último mes de gestación, se introdujo un macho intacto al corral de las hembras para que éste interaccionara con ellas y de esta manera evitar un efecto macho al momento de introducir éste para comprobar el reinicio de la actividad sexual postparto.

Alimentación

Los animales fueron alimentados una vez por día en las mañanas. La alimentación que recibieron todos los animales durante todo el estudio consistió de heno de alfalfa y concentrado comercial a base de grano de sorgo. La cantidad de alimento que se les administró, fue tomando en cuenta el número de crías y su estado de lactancia según las sugerencias de las tablas de la NRC (1981). El agua y las sales minerales se disponían a libre acceso.

Determinación de la actividad sexual postparto

Iniciando desde la primera semana de lactancia se comenzó a detectar la conducta estral (celo) en todas las cabras. Para ello, diariamente tanto en los corrales individuales como en los corrales comunes, se introdujo una vez por día un macho intacto equipado con un mandil en su parte ventral. El macho permanecía durante 3 min en cada corral individual y por al menos 30 min en los corrales grandes, tiempo suficiente para que detectará las cabras que estaban en celo. El criterio acordado para indicar que una cabra mostraba conducta estral fue la inmovilización de la hembra al ser montada por el macho (Mauléon y Dautier, 1965). En los corrales comunes, cuando una cabra mostraba conducta estral, ésta era removida del corral para que el macho pudiera seguir buscando a otras hembras en celo. La terminación de la detección de celos fue hasta los 3 meses con 3 semanas postparto.

Definición y cálculo de variables:

Anestro postparto: Fueron los días transcurridos desde el parto hasta el día que la cabra presentó conducta estral. Con la fecha de parto y la fecha de inicio de la actividad estral, se calculó la duración individual del anestro postparto de cada cabra y posteriormente se calculó la duración promedio para cada grupo. Cuando los animales no presentaron celo durante todo el período experimental, se consideró como la fecha de inicio del celo, la última fecha en que se determinó el celo + 1 día (5 febrero de 1999) para fines estadísticas.

Duración de los ciclos estrales: El ciclo estral fue el intervalo en días desde el inicio de un celo al inicio de otro celo y con un intervalo mínimo sin actividad sexual de 2 días entre ambos periodos de celos. Según su duración, los ciclos fueron clasificados en normales (de 17 a 25 días), cortos (< de 17 días) y largos (> de 25 días; Chemineau *et al.*, 1992).

Análisis estadísticos

Como los datos de la duración del anestro postparto no mostraron una distribución normal (*Lilliefors test*), se utilizó la prueba no paramétrica de Mann-Whitney para la comparación de la duración del anestro postparto. Para comparar la proporción de cabras en celo entre los dos grupos durante el período postparto se utilizó la prueba no paramétrica de Kolmogorov-Smirnov. La comparación de las proporciones de ciclos cortos, normales y largos se realizó también mediante esta misma prueba. Los resultados son expresados en promedio \pm error estándar del promedio (\pm SEM).

Resultados

Prueba de selectividad maternal a 24 horas postparto

Durante la prueba de selectividad en las cabras intactas, todas las conductas registradas difirieron significativamente entre la cría propia y extraña (prueba de Wilcoxon, $p < 0.05$ en todos los casos), mientras que éste no fue el caso en las cabras del grupo anósmico. Además,

cuando se compararon los 2 grupos no existieron diferencias en las conductas dirigidas hacia la cría propia. Por otra parte, las conductas hacia una cría extraña (frecuencia de aceptación a la ubre, duración del amamantamiento, la frecuencia de conducta agresiva y la proporción de balidos maternos) difirieron significativamente en cabras intactas y anósmicas (prueba de Mann-Whitney, $p \leq 0.02$; Tabla 7). Estas diferencias en las conductas, indican una mejor aceptación del cabrito extraño en el grupo de cabras anósmicas.

Tabla 7. Conductas (media \pm SEM) de cabras Criollas intactas (GS) y anósmicas (GNS) hacia una cría extraña en una prueba de selectividad maternal realizada a 24 hrs postparto ($P \leq 0.02$ para todas las variables; Mann-Whitney test).

Grupo	Aceptación a la ubre (frecuencia)	Tiempo de amamantamiento (s)	Proporción de balidos maternos	Rechazos a la ubre (frecuencia)	Conducta agresiva (frecuencia)
GS (n = 24)	0.04 \pm 0.04	0.3 \pm 0.3	0.44 \pm 0.07	0.6 \pm 0.2	2.5 \pm 0.8
GNS (n = 18)	0.7 \pm 0.2	17 \pm 9	0.88 \pm 0.07	0.3 \pm 0.1	0.3 \pm 0.2

Actividad sexual postparto.

Fechas de inicio y duración del anestro postparto

En el GS la fecha promedio de inicio de la actividad estral fue el 24 de diciembre de 1998 \pm 7.2 días, mientras que para el GNS la fecha promedio de inicio de esta actividad sexual fue hasta el 18 de enero de 1999 \pm 7.2 días. Por consiguiente, la duración del anestro postparto en el GS fue significativamente menor (67.8 días \pm 7.2), que en el grupo GNS (93.1 días \pm 7.4; $p < 0.05$; Mann-Whitney U= 303.5).

Porcentaje acumulativo de cabras en celo durante el estudio

La proporción de cabras en celo durante las 15 semanas de estudio es mostrada en la figura 23, en la cual se puede observar que una mayor proporción de hembras intactas que de hembras

anósmicas, mostraron celo de la séptima a la treceava semana de lactancia ($p < 0.05$; en cada semana).

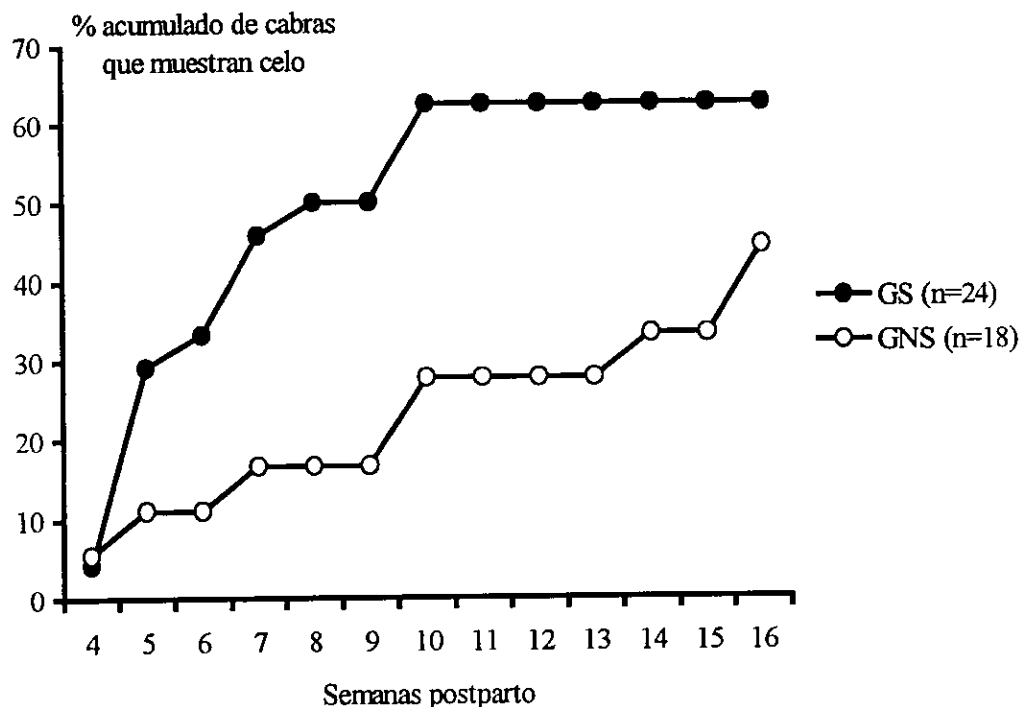


Figura 23. Porcentaje acumulativo de cabras que muestran conducta estral durante las primeras 16 semanas de estudio, en las cabras intactas (GS) y anósmicas (GNS). Existió diferencia significativa entre grupos a partir de la séptima semana postparto ($p = 0.02$, Kolmogorov-Smirnov test)

Duración de los ciclos estrales

En el grupo intacto, se registraron 30 ciclos estrales, de los cuales solo 2 fueron de duración normal (17 a 25 días), 24 fueron ciclos cortos (< 17 días) y 4 fueron largos (> 25 días). En el grupo anósmico, esta proporción fue la siguiente: 4/10, 5/10, 1/10. Por ello, la proporción de ciclos de duración normal fue significativamente menor en el grupo intacto que en el grupo de cabras anósmicas (2/30 vs 4/10 respectivamente; Prueba exacta de Fisher $p_b = 0.026$).

Discusión

Los resultados del presente estudio demuestran que en cabras mantenidas en contacto diario con un macho, la deficiencia olfatoria y la ausencia de un vínculo selectivo no resultan en una reducción de la duración del anestro postparto. Más bien indican que el bloqueo del establecimiento de un vínculo selectivo mediante la anosmia, retarda la duración del período de inactividad sexual postparto en estas condiciones.

La duración del anestro postparto en las cabras intactas del presente estudio, es diferente a la reportada en esta misma especie por Delgadillo *et al.* (1998). En efecto, estos autores reportaron que en cabras que paren en octubre y que amamantan a sus crías durante 90 días, el anestro postparto es de aproximadamente 82 días. En cambio, en el presente trabajo, a pesar de que las hembras y sus crías continuaron juntas hasta el fin del estudio (110 días), el anestro fue de 68 días en las cabras intactas. Varios factores pueden explicar esta diferencia. Primero, no se puede excluir que los animales utilizados por Delgadillo *et al.* (1998), si bien eran de tipo Criollo como los del presente estudio, hayan tenido un encaste mayor de razas europeas con un anestro lactacional más marcado (Alpina, Saanen, Granadina y Nubia). Al respecto, Valencia *et al.* (1990) reportaron que las cabras Criollas presentan actividad ovárica durante la mayor parte del año, en comparación con las cabras de raza Granadina, las cuales mostraron una época definida de anestro. No se puede excluir que un fenómeno similar exista en cuanto al anestro postparto.

El segundo factor que posiblemente influyó sobre el reinicio de la actividad sexual en las cabras intactas del presente estudio, es el grado de separación entre los machos y las hembras aparte de los cortos periodos diarios de interacción al momento de la detección de los celos. En efecto, los machos estaban alojados a aproximadamente 50 metros de distancia de las hembras, y no se puede excluir que las hembras hayan percibido su olor, acelerando la

recuperación de la actividad sexual. De hecho está reportado en la literatura que el olor del macho es un factor que estimula la iniciación de la actividad ovárica en hembras en anestro, y que la presencia continua del macho reduce la duración del anestro estacional (Restall *et al.*, 1991; Restall, 1992). Asimismo, se ha reportado en algunos casos que una separación de 50 a 100 m entre los machos y las hembras no es suficiente para obtener un aislamiento total (Walkden-Brown y Restall, 1996; Walkden-Brown *et al.*, 1993ab), y se puede entonces que una estimulación olfatoria continua haya resultado en un reinicio prematuro de la actividad sexual en nuestras hembras intactas. Al contrario, en el estudio de Delgadillo *et al.* (1998), las condiciones permitieron un aislamiento más controlado, resultando así en una recuperación de la actividad sexual independientemente de la estimulación crónica por el olor de los machos. Eso podría explicar también la presencia de ciclos cortos en las madres intactas del presente estudio, lo cual es un indicador de un inicio prematuro de la actividad reproductora (Camp *et al.*, 1983; Chemineau *et al.*, 1983). Asimismo, podría explicar la diferencia entre las madres intactas y las anósmicas, tanto en términos de duración de anestro postparto, como en proporción de ciclos normales: en ausencia de estimulación olfatoria, las madres anósmicas recuperaron su actividad ovárica más tardíamente y por lo tanto mostraron menos ciclos cortos, debido a una recuperación mayor del sistema reproductor. Es interesante notar que de hecho, la duración del anestro postparto en las madres anósmicas es bastante similar a la reportada por Delgadillo *et al.* (1998) en hembras intactas, lo cual podría sugerir que la anosmia no afectó de manera muy marcada el anestro postparto. También es congruente con la hipótesis que la diferencia entre madres intactas y madres anósmicas en el presente estudio está debida a un reinicio prematuro de la actividad sexual en las madres intactas. También está de acuerdo con los datos obtenidos en bovinos. En esta especie, está bien documentado que la presencia del macho durante el periodo postparto influye sobre su duración. (Zalesky *et al.*,

1984; Custer *et al.*, 1990). Por ejemplo, Zalesky *et al.* (1984) expusieron vacas al toro desde 3 a 83 días postparto y de 53 a 83 días postparto, encontrando que las vacas expuestas desde el día 3 postparto, presentan su primer celo 21 días antes que las expuestas al toro hasta los 53 días postparto. Resultados similares fueron reportados por Scott y Montgomery (1987).

Por otra parte, en las cabras anósmicas, se postulaba que la ausencia del vínculo exclusivo resultaría en un anestro postparto más corto que las intactas. Sin embargo los resultados no apoyan esta hipótesis. Si se toman en consideración los hechos que las madres intactas tuvieron un anestro postparto probablemente reducido debido a un efecto crónico de estimulación por los machos y que las madres intactas en el estudio de Delgadillo *et al.* (1998) y las madres anósmicas del presente estudio tuvieron un anestro postparto de duración similar, la explicación más probable es que la anosmia no afectó dicha duración. Esto no concuerda con los experimentos realizados en vacas, en donde se demostró que la ausencia del olfato y la visión durante los amamantamientos, resultó en un incremento de los niveles de gonadotropinas; posiblemente debido a la falta de identificación de su becerro. En contraste, las vacas que podían oler y ver a su becerro (por lo cual podían identificarlo), los niveles de gonadotropinas se mantuvieron sin cambio (Griffith y Williams, 1996). Es importante resaltar que en este último estudio, la anosmia era temporal y realizada después del parto y que además, la respuesta medida era inmediata y a nivel sanguíneo, mientras que en el presente trabajo se midió un efecto global a largo plazo.

En el presente estudio, posiblemente la deficiencia olfatoria en las cabras del grupo GNS, indujo que la estimulación olfatoria proporcionada por el macho durante las sesiones de detección de celos no fuera percibida. Al respecto, Chemineau *et al.* (1986), demostraron que en cabras anovulatoria y no lactantes, la anosmia redujo la respuesta ovulatoria hasta en un 50 % de las cabras, debido a la introducción del macho. Sin embargo, la proporción de cabras

exhibiendo un incremento en la secreción de LH no fue afectada. En ovejas, anósmicas se han reportado efectos similares sobre la respuesta ovulatoria (Morgan *et al.*, 1972) y sobre la respuesta de la LH debido a la introducción de los carneros (Cohen-Tannoudji *et al.*, 1986). Asimismo, Clauss *et al.* (1990) y Walkden-Brown *et al.* (1993b) reportaron que exponiendo las cabras al pelo de los machos, pudo inducir una respuesta ovulatoria parcial. Estas observaciones sugieren que la estimulación proporcionada por el macho esta bajo un control multisensorial, en el cual se encuentra implicadas las señales olfatorias, visuales, táctiles y auditorias. Sin embargo cabe resaltar el papel de las señales olfatorias, pues se han identificado que los machos en actividad sexual producen en sus glándulas sebáceas un "cocktail" de componentes que son implicados en la estimulación (Jenkinson *et al.*, 1967; Sasada *et al.*, 1983; Clauss *et al.*, 1990), el cual contiene más de 29 ácidos grasos específicos que no se encuentran en los carneros castrados o bien en las hembras (Hillbrick, *et al.*, 1995). Finalmente, sería interesante repetir el estudio pero teniendo 4 grupos: un grupo intacto y un grupo anósmico con sus crías totalmente aislados de cualquier macho y en los cuales solo se determine la actividad ovulatoria solamente midiendo los niveles plasmáticos de progesterona. Asimismo, otros dos grupos similares a los anteriores, pero en el cual se detecte además de la secreción de progesterona el inicio de la conducta estral con la utilización del macho. Este diseño permitiría disociar el efecto de la presencia del vínculo selectivo y del papel del olor del macho sobre la duración del período e inactividad sexual postparto, así como detectar una posible interacción entre estos dos factores.

Conclusiones

Este estudio indica que la anosmia preparto y por ello, la ausencia del establecimiento de un vínculo selectivo en la cabra no acorta la duración del anestro postparto en cabras que amamantan a sus crías. Al contrario, los resultados sugieren más bien que la anosmia retarda el retorno de la actividad estral postparto, cuando las hembras tienen interacción diaria con el macho y una posible exposición crónica a las señales olfatorias de éstos.

La mayor incidencia de ciclos cortos observados en las cabras del GI en este estudio posiblemente es debida a un pronto inicio de la actividad sexual postparto, antes de que el sistema reproductivo haya recuperado su funcionalidad normal.

Se sugiere que en cabras, el olor del macho es una señal sensorial que influye sobre el retorno de la actividad sexual en la hembra lactante.

Se sugiere repetir el experimento usando los 4 grupos mencionados al final de la discusión.

Dicho diseño podría ser útil para disociar el efecto de la presencia del vínculo selectivo y del papel del olor del macho sobre la duración del período e inactividad sexual postparto.

VII. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

El estudio de la conducta espontánea de amamantamiento en la cabra indica que los cabritos tienen una gran capacidad de adaptación en sus ritmos de amamantamiento desde los primeros días de su vida. Si bien su conducta inicial de crías escondedizas influye sobre sus ritmos de actividad y de succión, en conjunto no muestran diferencias muy marcadas en la frecuencia global de succión entre esta especie y la ovina, cuyas crías tienen una conducta de seguidores. Sin embargo, cabe señalar que son necesarios estudios comparativos en condiciones similares para concluir de manera definitiva sobre este punto. De hecho, cuando uno compara los datos obtenidos en el presente estudio y los varios reportes de la literatura en cabras, parece que la conducta de amamantamiento de los cabritos tiene ritmos muy flexibles y es probable que factores como el tamaño de la camada, las condiciones en las cuales los animales están mantenidos (densidad, concentración de los partos, medio ambiente, posibilidad de esconderse, etc.) pueden modificar su conducta. Por otra parte nuestros resultados confirman que una vez transcurrida la primera semana de lactancia, ovinos y caprinos tienen una relación madre - cría muy similar, al menos en condiciones intensivas de mantenimiento.

Otro aspecto que deberá aclararse es si la conducta escondediza del cabrito depende exclusivamente del recién nacido, o también de la conducta de la madre. En otros términos, sería interesante investigar si el inicio de los periodos de amamantamiento depende principalmente de las crías, o si existe alguna regulación por parte de la madre desde el primer día postparto. Nuevamente, comparando la conducta espontánea de ovejas y cabras y sus crías al respecto podría ayudar aclarar este punto, en particular incluyendo en el estudio grupos con adopciones cruzadas entre las dos especies, y por otra parte comparando la respuesta maternal a la separación de la cría en etapas muy tempranas de la relación madre - cría (i.e. en la

primera semana postparto). Dichos estudios permitirían plantear las bases etológicas para futuros estudios sobre los factores neurobiológicos que controlan la conducta de afiliación en madres y sus crías en especies de crías seguidoras y escondedizas. Así mismo, los resultados de crecimiento de las crías y de producción de leche en madres con contacto diario restringido coinciden con la idea de una gran capacidad de adaptación por parte no solamente de los cabritos, pero también de las madres. Estos resultados demuestran que desde el punto de vista práctico existe la posibilidad de aprovechar esta flexibilidad conductual para fines de producción, aún si se tiene que investigar que tanto se pueden aplicar estos tratamientos dependiendo del potencial genético de los animales, de la disponibilidad en alimento y del tipo de manejo. En particular sería muy valioso para los productores valorar si este tipo de tratamiento puede aplicarse bajo condiciones extensivas de manejo, en donde los animales obtienen su nutrición principalmente de la vegetación disponible en las áreas de pastoreo. Esto nos dará una mejor visión de lo que pudiera ocurrir con esos tratamientos para la producción de leche en regiones en donde los animales están sometidos a esas condiciones.

El estudio de las relaciones entre la presencia de una conducta maternal y de un vínculo selectivo por un lado y la fisiología de la hembra por el otro, demuestra que la especie caprina existe una relación estrecha entre esos factores, al igual de los que se conoce en otros mamíferos, aunque el tipo de relación puede variar entre especies o dependiendo del grado de avance de la lactancia. En particular queda claro que la presencia de un vínculo materno afecta de manera significativa la liberación de las hormonas hipofisarias como la PRL y OT, aunque de manera diferencial. En el caso de la PRL, existe un efecto dependiendo de la presencia de una cría (cualquier cría), mientras que en el caso de la OT, dicho efecto depende principalmente de su identidad. Este efecto diferencial no había sido reportado antes en

caprinos. Es interesante notar que existen concordancias con eventos neuroquímicos en el bulbo olfatorio en respuesta a la estimulación por el olor de la cría en ovinos. Considerando que existe evidencia en varias especies que el olor de las crías puede ser una señal para la liberación de hormonas normalmente secretadas al momento de la estimulación del pezón, se podría investigar en la cabra si existen fenómenos neuroquímicos similares a los descritos en ovejas y si están efectivamente relacionados con la liberación de la PRL y la OT. Sin embargo, por otro lado, nuestros resultados apoyan solamente de manera parcial la hipótesis de una regulación puramente exteroceptiva para la liberación de la PRL y la OT. La sola presencia de los cabritos no desencadenó la liberación de dichas hormonas, y es solamente en presencia de la succión que el efecto mediado por el olor de la cría se puede evidenciar. Así mismo, queda todavía por investigar si el aumento de liberación de PRL observado en madres con contacto diario restringido depende de una respuesta a señales exteroceptivas adquirida por condicionamiento o de un proceso puramente ligado a eventos endocrinos dependientes de un largo tiempo de separación madre – cría.

Los efectos de la anosmia preparto sobre la conducta y la fisiología maternal confirman este papel dual del olor de la cría sobre la liberación de hormonas involucradas en el mantenimiento de la lactancia, ya que en madres anósmicas las dos hormonas tienen un patrón de liberación mucho más similar que en madres intactas. Entonces podemos concluir que si la presencia de un vínculo selectivo modula el equilibrio endocrino de la madre. Sin embargo, parece que esta modulación no tiene consecuencias muy importantes sobre el potencial de producción de leche o la recuperación de la actividad reproductora en la madre. En efecto tanto en cabras como en ovejas, la producción de leche no fue significativamente afectada por la anosmia. De igual manera, los datos de anestro postparto sugieren que la diferencia de fecha de reinicio de la actividad sexual entre las cabras intactas y las anósmicas no fue debida a la

ausencia de selectividad maternal, sino más bien a la falta de percepción de las señales olfatorias del macho cabrío durante el periodo postparto de estudio. Finalmente a nivel conductual, los resultados obtenidos no sugieren que la anosmia haya afectado de manera muy marcada la motivación maternal, ya que la actividad global de cuidado materno, aún si no fue selectiva en las madres anósmicas, fue similar a la encontrada en las madres intactas.

Considerando los puntos anteriores, uno puede preguntarse cuál es el valor adaptativo real de la selectividad maternal, puesto que no parece influir sobre el crecimiento de la progenie de la madre en términos de disponibilidad de leche o de crecimiento y que tampoco, parece controlar la recuperación de la actividad sexual lo cual podría ser una ventaja para las crías. Está comúnmente admitido que especies que viven en grandes grupos sociales, permite a la madre invertir preferencialmente en su cría. Sin embargo, nuestros datos indican que en un grupo de madres no selectivas, el desarrollo de las crías no se ve afectado. Por otra parte quedaría por demostrar que en estas especies existe un conflicto entre el reinicio de la reproducción y el mantenimiento del cuidado materno. Varios puntos tienen que ser considerados para explicar estas aparentes contradicciones. Primero, los grupos de ovejas y de cabras que estudiamos eran muy diferentes de los que se encontrarían en una situación natural, ya que eran grupos de madres con crías muy homogéneas, y conformados después de varias horas de aislamiento de la madre con su recién nacido. En condiciones naturales, adentro de un grupo existe una posibilidad de competencia entre crías de varias edades, y entonces es crítico que la madre se vincule rápidamente a su propia cría, la cual no podría competir con otra de algunos días de edad. Por otra parte existen hembras que no son lactantes o en un estadio de lactancia que no es el más adecuado para un recién nacido (por falta de calostro por ejemplo). Una adecuada conducta de aislamiento al parto y la rápida formación de un lazo selectivo fuerte siguen entonces elementos que mejoran la adecuación inclusiva de la hembra,

ya que va permitir evitar competencia entre sus crías y otras más fuertes así como también evitar que el recién nacido gaste energía persiguiendo a hembras que no lo pueden nutrir. En cuanto a la modulación en la recuperación de la ciclicidad por la conducta de amamantamiento de la cría, no se debe perder de vista que en condiciones normales, las madres paren en la primavera y que por lo tanto existe una interacción muy importante entre el anestro estacional y el anestro postparto. En condiciones de ganadería controlada por el hombre, el destete a los dos o tres meses máximo permite la expresión de la conducta sexual al inicio de la estación sexual, cuando normalmente ocurriera en hembras no gestantes. Sería interesante comprobar lo que pasa en madres que siguen amamantando a sus crías hasta un destete espontáneo. ¿Pueden esas madres faltar una estación reproductiva por una inhibición de la reproducción debida a la presencia de su (s) cría (s)? En estas mismas condiciones, ¿corresponde el destete al inicio de la actividad sexual en la madre?. Es posible que en estas condiciones más "naturales", se pueda medir el impacto real de los diversos factores asociados con la presencia de la cría (su conducta individual de succión, su sexo, el tamaño de la camada, etc.) sobre la recuperación de la actividad reproductora en la madre. En otros términos, nuestros estudios nos permiten aclarar algunos aspectos de las consecuencias a corto plazo del cuidado de la cría sobre la fisiología maternal en pequeños rumiantes, pero se necesitan estudios en condiciones más naturales para investigar estas relaciones en términos de éxito reproductivo real.

Otro punto muy importante a tomar en consideración para la interpretación de los resultados del presente estudio en cuanto al papel del olfato materno en la regulación de la fisiología de la hembra y su conducta materna es que nuestros datos conciernen animales hechos anósmicos antes del parto. Eso pudo ser el factor principal de discrepancia entre nuestros resultados y los obtenidos en vacas, en las cuales la anosmia fue realizada después del parto, transitoria y de corta duración. En nuestro caso existe una buena posibilidad que los animales compensaron

por la pérdida del olfato y que, por lo tanto, los efectos de la anosmia hayan sido mucho menores que en madres que se les hubiera inducido la anosmia después del parto. De hecho en la oveja existen indicaciones que los efectos de la anosmia sobre la conducta maternal difieren cuando la anosmia está realizada antes del parto o después de varias semanas postparto (Poindron y Le Neindre, 1980). Asimismo, se sabe que la anosmia preparto lleva a algún mecanismo de reorganización del control sensorial de la conducta maternal al parto. Hembras intactas (y en particular hembras sin experiencia maternal previa) muestran perturbaciones en el desarrollo de su conducta maternal al parto si se les impide la percepción de la información olfatoria, en particular la del líquido amniótico (Lévy y Poindron, 1987). Al contrario, si se impide a la hembra la percepción de esta misma información por una anosmia postparto, la madre muestra muy pocos trastornos en el desarrollo de su conducta, salvo por la ausencia de selectividad (Lévy *et al.*, 1995). Por consiguiente sería muy útil realizar estudios en los cuales la privación de la información olfatoria se realice por otros medios distintos a una anosmia, o a lo menos estudiando los efectos de una anosmia postparto transitoria sobre la endocrinología maternal.

Finalmente, y tomando en cuenta la restricción anterior, los presentes resultados obtenidos en ovejas y en cabras anósmicas sugieren que el sentido del olfato y la presencia de un vínculo selectivo no son elementos indispensables para el mantenimiento de la conducta maternal, al menos en nuestras condiciones y durante los dos primeros meses de la lactancia. Esto concuerda con los resultados obtenidos sobre estas mismas ovejas en el tercer mes de lactación (Frías, en preparación), los cuales revelaron pocas diferencias entre madres intactas en diferentes situaciones de prueba entre la octava y la decimatercera semana postparto. También concuerdan con otros estudios en ovejas lactantes intactas en los cuales se demostró que la presencia de la cría es indispensable para el mantenimiento de la motivación maternal en el

tercer mes de lactancia (Hernández, 1996; Serafin, 1996), mientras que la privación del amamantamiento o de la percepción de cerca del olor del cordero no tiene efecto adverso, incluso si la privación se mantiene por 15 días (Vázquez, 1996). Por lo tanto, parece que conforme avanza la lactancia, el control de la conducta maternal en la oveja se vuelve progresivamente más multisensorial, y los resultados obtenidos en cabras anósmicas siguieren un proceso similar en esta especie, aunque experimentos específicamente diseñados para comprobar esta hipótesis deben realizarse en un futuro. En otros términos, la cría parece ser el factor principal que controla la motivación maternal, como es también el caso en la rata, pero las señales relevantes parecen cambiar o al menos intercambiar su papel a lo largo de la relación. Asimismo, el posible papel de los factores endócrinos asociados a la lactancia que podrían regular la conducta maternal permanece mal comprendido en ambas especies. Por ejemplo, se ha reportado en ovejas que existe una correlación positiva entre la producción de leche y el mantenimiento de la motivación maternal (evaluada por la fecha de destete espontaneo; Arnold *et al.*, 1979), pero otros estudios han mostrado que el bloqueo de la secreción de prolactina por períodos cortos (Poindron y Le Neindre, 1980) o desde el inicio de la lactancia (lo cual reduce muy significativamente la producción de leche; Louault, 1983) no bloquean la manifestación de la conducta materna. Por lo tanto, los mecanismos de regulación de la motivación maternal y de su inhibición al final de la lactancia siguen desconocidos. Una posible hipótesis de trabajo sería de investigar si la cría, de la misma manera que estimula la liberación de hormonas galactopoiéticas al inicio de la lactancia y la inhibe al final, puede estimular la motivación maternal al inicio e inhibirla al final del ciclo.

REFERENCIAS

- Aguilar, J. C., Villarreal, O., Hernández, H., Poindron, P., Chemineau, P., Delgadillo, J. A. (1997). El comportamiento maternal de las cabras de la Comarca Lagunera que paren en otoño modifica el reinicio de la actividad sexual postparto. *In "Memorias de la XII Reunión Nacional sobre Caprinocultura"*, pp. 123-127, Torreón, Coah. México.
- Akers, R.M. (1999). Lactogenesis. In: Knobil, E., Neill, J.D. (Eds.), *Encyclopedia of Reproduction*, Vol 2. **Academic Press**. pp. 979-985.
- Akers, R.M., Lefcourt, A.M. (1982). Milking and suckling induced secretion of oxytocin and prolactin in parturient dairy cows. **Horm. Behav.** 16: 87-93.
- Akers, R. M., Lefcourt, A. M. (1984). Effect of presence of calf on milking-induced release of prolactin and oxytocin during early lactation of dairy cows. **J. Dairy Sci.** 67: 115-122.
- Akers, R. M., Bauman, D. E., Capuco, A. V., Goodman, G. T., Tucker, H. A. (1981). Prolactin regulation of milk secretion and biochemical differentiation of mammary epithelial cells in periparturient cows. **Endocrinology**. 109: 23-30.
- Alberts, J. R. (1974). Producing and interpreting experimental olfactory deficits. **Physiol. Behav.** 12: 657-670.
- Alexander, G. (1984). Constraints to lamb survival. In: Lindsay, D.R. Pearce, D.T., (Eds.), *Reproduction in Sheep*, **Australian Wool Corporation**, Canberra (Australia). pp. 199-209.
- Alexander, G. (1988). What makes a good mother?: components and comparative aspects of maternal behaviour in Ungulates. **Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.** 17: 25-41.
- Alexander, G., Williams, D. (1964). Maternal facilitation of sucking drive in new born lambs. **Science**. 146: 665-666.
- Alexander, G., Shillito, E. E. (1977). The importance of odour, appearance and voice in maternal recognition of the young in Merino sheep (*Ovis aries*). **Appl. Anim. Ethol.** 3: 127-135.
- Alexander, G., Stevens, D. (1982). Odour cues to maternal recognition of lambs: an investigation of some possible sources. **Appl. Anim. Ethol.** 9: 165-175.
- Allan, C. J., Holst, P. J., Hinch, G. N. (1991). Behaviour of parturient australian bush goats. I. Doe behaviour and kid vigour. **Appl. Anim. Behav. Sci.** 32: 55-64.
- Amenori, Y., Chen, C. L., Meites, J. (1970). Serum prolactin levels in rats during different reproductive states. **Endocrinology**. 86: 506-510.
- Arnold, G.W., Wallace, S.R., Maller, R.A. (1979). Some factors involved in natural weaning processes in sheep. **Appl. Anim. Ethol.** 5:43-50.
- Bachman, K.C., Elvinger, F., Head, H.H., (1999). Somatotropin (Growth hormone): Effects on lactogenesis and milk production. In: Martinet, J., Houdebine, L.M., Head, H.H. (Eds). *Biology of Lactation*. **INRA Editions**. 261-306.
- Baldwin, B. A., Shillito, E. E. (1974). The effects of ablation of the olfactory bulbs on parturition and maternal behaviour in Soay sheep. **Anim. Behav.** 22: 220-223.
- Bareham, J. R. (1976). The behaviour of lambs on the first day after birth. **Br. Vet. J.** 132: 152-162.
- Barowicz, T., Ewy, Z. (1974). Oxytocic activity in the blood plasma of the sheep in relation to suckling stimuli. **Bull. Acad. Pol. Sci.** 25: 83-93.
- Bauman, D. E., Vernon, R. G. (1993). Effects of exogenous bovine somatotropin on lactation. **Annu. Rev. Nutr.** 13: 437-461.

- Bauman, D. E., Eppard, P. J., DeGeeter, M. J., Lanza, G. M. (1985). Responses of high-producing dairy cows to long-term treatment with pituitary somatotropin and recombinant somatotropin. *J. Dairy Sci.* 68: 1352-1362.
- Beach, F. A., Jaynes, J. (1956). Studies of maternal retrieving in rats I: Recognition of young. *J. Mamm.* 37: 177-180.
- Booth, K. K., Katz, L. S. (2000). Role of the vomeronasal organ in neonatal offspring recognition in sheep. *Biol. Reprod.* 63: 953-958.
- Bouissou, M. F. (1968). Effet de l'ablation des bulbes olfactifs sur la reconnaissance du jeune par sa mère chez les Ovins. *Rev. Comp. Anim.* 2: 77-83.
- Bridges, R. S., Numan, M., Ronsheim, P. M., Mann, P. E., Lupini, C. E. (1990). Central prolactin infusions stimulate maternal behavior in steroid-treated, nulliparous female rats. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 87: 8003-8007.
- Browning, R. Jr., Robert, B.S., Lewis, A.W., Neuendorff, D.A., Randel, R.D. (1994). Effects of postpartum nutrition and once-daily suckling on reproductive efficiency and preweaning calf performance in fall-calving Brahman *Bos indicus* cows. *J. Anim. Sci.* 72: 984-989.
- Bruce, H. M. (1958). Suckling stimulus and lactation. *Proc. Roy. Soc. Biol.* 149: 421-423.
- Bryant, G. D., Greenwood, F.C., Linzell, J.L. (1968). Plasma prolactin levels in the goat: physiological and experimental modifications. *J. Endocrinol.* 40: 4-5.
- Bungo, T., Shimojo, M., Nakano, Y., Okano, K., Masuda, Y., Goto, I. (1998). Relationship between nursing and suckling behaviour in Tokara native goats. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 59: 357-362.
- Burke, J., Brooks, P.H., Kirk, J.A., Eddison, J.C. (1998). Suckling frequency of group housed sows in two different space allocations. *Proc. Brit. Soc. Anim. Sci.*
- Bussmann, L. E., Koninckx, A., Deis, R. P. (1983). Effect of estrogen and placental lactogen on lactogenesis in pregnant rats. *Biol. Reprod.* 29: 535-541.
- Buttle, H. L., Forsyth, I. A., Knaggs, G. S. (1972). Plasma prolactin measured by radioimmunoassay and bioassay in pregnant and lactating goats and the occurrence of a placental lactogen. *J. Endocrinol.* 53: 483-491.
- Camp, J. C., Wildt, D.E., Howard, P.K., Stuart, L.D., Chakraborty, P.K. (1983). Ovarian activity during normal and abnormal length estrus in the goat. *Biol. Reprod.* 28: 673-681.
- Caron, R. W., Deis, R. P. (1998). Oestradiol implants in the arcuate nucleus induce lactogenesis in virgin rats. Role of progesterone. *Life Sci.* 62: 229-237.
- Cepeda, P. R. (1993). Crianza de cabritos. In "Memorias del seminario nacional sobre producción y comercialización del ganado caprino.", pp. 31-36, Monterrey N.L. México.
- Clapp, C., Martínez de la Escalera, G., Aguayo, D. y Mena, F. (1987). Regulación integrativa de la lactancia. *Bol. Est. Med. Biol.* 35: 63-107.
- Clauss, R., Over, R., Dehnhard, M. (1990). Effect of male odour on LH secretion and the induction of ovulation in seasonally anoestrous goats. *Anim. Reprod. Sci.* 22: 27-38.
- Clutton-Brock, T., Guinness, F.E., Albon, S.D. (1982). Red deer, behaviour and ecology of two sexes. Chicago: University of Chicago Press.
- Cohen-Tannoudji, J., Locatelli, A., Signoret, J. P. (1986). Non-pheromonal stimulation by the male of LH release in the anoestrous ewe. *Physiol. Behav.* 36: 921-924.
- Collias, N. E. (1956). The analysis of socialization in sheep and goats. *Ecology.* 37: 228-239.

- Corteel, J.M., Leboeuf, B., Baril, G. (1988). Artificial Breeding of adult goats and kids induced with hormones to ovulate outside the breeding season. *Small. Rumin. Res.* 1:19-35.
- Cowie, A. T., Tindal, J.S., (1969). The maintenance of lactation in goat after hypophysectomy. *J. Endocrinol.* 23: 79-96.
- Crowley, W. R., Armstrong, W. E. (1992). Neurochemical regulation of oxytocin secretion in lactation. *Endocr. Rev.* 13: 33-65.
- Currie, W.B., Thorburn, G.D., (1973). Induction of premature parturition in goats by prostaglandin F₂ α administered into the uterine vein. *Prostaglandins.* 4: 201-214.
- Custer, E. E., Beradinelli, J.G., Short, R.E., Wehrman, M., Adair, R. (1990). Postpartum interval to estrus and patterns of LH and progesterone in first-calf suckled beef cows exposed to mature bulls. *J. Anim. Sci.* 68: 1370-1377.
- Chemineau, P. (1983). Effect on oestrus and ovulation of exposing Creole goats to the male at three times of the year. *J. Reprod. Fertil.* 67: 65-72.
- Chemineau, P., Cognié, Y., Xandé, A., Peroux, F., Alexandre, G., Levy, F., Shitalou, E., Beche, J. M., Sergent, D., Camus, E., Barre, N., Thimonier, J. (1984). Le << Cabrit créole >> de Guadeloupe et ses caractéristiques zootechniques: monographie. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop.* 37: 225-238.
- Chemineau, P., Lévy, F., Thimonier, J. (1986). Effects of anosmia on LH secretion, ovulation and oestrous behaviour induced by males in the anovular creole goat. *Anim. Reprod. Sci.* 10: 125-132.
- Chemineau, P., Daveau, A., Maurice, F., Delgadillo, J. A. (1992). Seasonality of estrus and ovulation is not modified by subjecting female Alpine goats to a tropical photoperiod. *Small. Rumin. Res.* 8: 299-312.
- Chilliard, Y. (1988). Roles et mecanismes d'action de la somatotropine (hormone de croissance) chez le ruminant en lactation. *Reprod. Nutr. Develop.* 28: 39-59.
- Dahl G.E., Chapin, L.T., Zinn, S.A., Moseley, W.M., Schwartz, T.R., Tucker, H.A., (1990). Sixty-day infusions of somatotropin-releasing factor stimulate milk production in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 73: 2444-2452.
- Das, S.M., Wiktorsson, H., Forsberg, M. (1999). Effects of calf management and level of feed supplementation on milk yield and calf growth of Zebu and crossbred cattle in the semi-arid tropics. *Livest. Prod. Sci.* 59, 67-75.
- Day, M. L., Imakawa, K., Clutter, A.C., Wolfe, P.L., Zalesky, D.D., Nielsen, M.K., Kinder, J.E. (1987). Suckling behavior of calves with dams varying in milk production. *J. Anim. Sci.* 65: 1207-1212.
- Delgadillo, J. A., Poindron, P., Krehbiel, D., Duarte, G., Rosales, E. (1997). Nursing, suckling and postpartum anoestrus of creole goats kidding in January in subtropical Mexico. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 55: 91-101.
- Delgadillo, J. A., Flores, J. A., Villarreal, O., Flores, M. J., Hoyos, G., Chemineau, P., Malpoux, B. (1998). Length of postpartum anestrus in goats in subtropical Mexico: effect of season of parturition and duration of nursing. *Theriogenology.* 49: 1209-1218.
- Delouis, C., Richard, P., (1993). Lactation. In: Thibault, C. Levasseur, M.C. and Hunter R.H.F (Eds.), *Reproduction in Mammals and Man. Editorial Ellipses*, Paris. Chapter 25 pp. 503-530.
- Drewett, R. F., Bowen-Jones, A., Dogterom, J. (1982). Oxytocin levels during breast-feeding in established lactation. *Horm. Behav.* 16: 245-248.

- Dubois-Dauphin, M., Armstrong, W. E., Tribollet, E., Dreifuss, J. J. (1985). Somatosensory systems and the milk-ejection reflex in the rat. II. The effects of lesions in the ventroposterior thalamic complex, dorsal columns and lateral cervical nucleus-dorsolateral funiculus. *Neuroscience*. 15: 1131-1140.
- Dunn, G. C., Price, E. O., Katz, L. S. (1987). Fostering calves by odor transfer. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 17: 33-39.
- Etherton, T. D., Bauman, D. E. (1998). Biology of somatotropin in growth and lactation of domestic animals. *Physiol. Rev.* 78: 745-761.
- Ewbank, R. (1964). Observations on the suckling habits of twin lambs. *Anim. Behav.* 12: 34-37.
- Ewbank, R. (1967). Nursing and suckling behaviour amongst Clun Forest ewes and lambs. *Anim. Behav.* 15: 251-258.
- FAO. (1982). *Anuario FAO de Producción*. 36: 217-219.
- Ferrando, G., Boza, J. (1990). Lactación de la cabra y los factores que la regulan. *Ann. Acad. Cien. Vet. de Andalucía Oriental*. 2: 46-77.
- Ferreira, G., Terrazas, A., Poindron, P., Nowak, R., Orgeur, P., Lévy, F. (2000). Learning of olfactory cues is not necessary for early lamb recognition by the mother. *Physiol. Behav.* 69: 405-412.
- Fitzpatrick, R. J. (1961). Estimation of small amounts of oxytocin in blood. In: Caldeyro-Bacia, R. Heller, H., (Eds.), *Oxytocin*. Pergamon, Oxford. pp. 360-379.
- Fleet, I. R., Peaker, M. (1978). Mammary function and its control at the cessation of lactation in the goat. *J. Physiol.* 279: 491-507.
- Fleming, A., Rosenblatt, J. (1974). Olfactory regulation of maternal behavior in rats: II. Effects of peripherally induced anosmia and lesions of the lateral olfactory tract in pup-induced virgins. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 86: 233-246.
- Fletcher, I. C. (1971). Relationships between frequency of suckling, lamb growth and postpartum oestrous behaviour in ewes. *Anim. Behav.* 19: 108-111.
- Folch, J., Blasco, I. (1987). Influencia del tiempo de amamantamiento sobre el anoestro postparto de la oveja Aragonesa en primavera. II Jornadas sobre producción animal. *Inf. Tec. Econ. Agr.* Vol. Extra. 7, 340-342.
- Forsyth, I. A., Byatt, J. C., Iley, S. (1985). Hormone concentrations, mammary development and milk yield in goats given long-term bromocriptine treatment in pregnancy. *J. Endocrinol.* 104: 77-85.
- Frías, M.C. (2001). Efecto de la anosmia preparto sobre la interacción madre-cría durante el segundo y tercer mes de la lactancia en ovejas. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Neurobiología Universidad Nacional Autónoma de México, Juriquilla, Querétaro. pp. 150 (en preparación).
- Fuchs, A. R., Ayromlooi, J., Rasmussen, A.B. (1987). Oxytocin response to conditioned and nonconditioned stimuli in lactating ewes. *Biol. Reprod.* 37: 301-305.
- Fukuoka, T., Negoro, H., Honda, K., Higuchi, T., Nishida, E. (1984). Spinal pathway of the milk-ejection reflex in the rat. *Biol. Reprod.* 30: 74-81.
- Garst, A. S., Ball, S. F., Willians, B. L., Wood, C. M., Knight, J. W., Moll, H. D., Aardema, C. H., Gwazdauskas, F. C. (1999). Influence of pig substitution on milk yield, litter weights, and milk composition of machine milked sows. *J. Anim. Sci.* 77: 1624-1630.
- Ginsburg, M., Smith, M. W. (1959). The fate of oxytocin in male and female rats. *Br. J. Pharmacol.* 14: 327-333.

- González-Mariscal, G., Rosenblatt, J.S. (1996). Maternal behavior in rabbits: a historical and multidisciplinary perspective. *Adv. Stud. Behav.* 25: 333-360.
- Gordon, K., Siegmann, M. (1991). Suckling behavior of ewes in early lactation. *Physiol. Behav.* 50: 1079-1081.
- Gordon, K., Renfreet, M. B., Short, R. V., Clarke, I. J. (1987). Hypothalamo-pituitary portal blood concentration of beta-endorphin during suckling in the ewe. *J. Reprod. Fertil.* 79: 397-408.
- Gordon, T., Goodman, H., Tucker, H.A., Convey, E.M. (1979). Presence of the calf affects secretion of prolactin in cows (40565). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 169: 421-424.
- Goursaud, A. P., Nowak, R. (1999). Colostrum mediates the development of mother preference by newborn lambs. *Physiol. Behav.* 67: 49-56.
- Gratchev, I. T. (1949). Reflexes from the mammary gland (en russe). *Zh. Obshch. Biol. Mosk.* 10: 401-420.
- Graves, H. B., Wilson, L. L., Hess, C. E. (1977). Some observations on activities of a small group of confined ewes with single, twin, or triplet lambs. *Appl. Anim. Ethol.* 3: 83-88.
- Griffith, M. K., Williams, G. L. (1996). Roles of maternal vision and olfaction in suckling-mediated inhibition of luteinizing hormone secretion, expression of maternal selectivity, and lactational performance of beef cows. *Biol. Reprod.* 54: 761-768.
- Grosvenor, C. E., Mena, F. (1971a). Effect of suckling upon the secretion and release of prolactin from the pituitary of the lactating rat. *J. Anim. Sci.* 32: 115-136.
- Grosvenor, C. E., Mena, F. (1971b). Evidence for a refractory period in the neuroendocrine mechanism for the release of prolactin. *Endocrinology.* 88: 355-358.
- Grosvenor, C. E., Mena, F. (1973). Evidence that suckling pups, through an exteroceptive mechanism, inhibit the milk stimulatory effects of prolactin in the rat during late lactation. *Horm. Behav.* 4: 209-222.
- Grosvenor, C. E., Mena, F., (1982). Regulating mechanisms of oxytocin and prolactin secretion during lactation. In: Muller E.E., MacLeod, R.M. (Eds.) *Neuroendocrine Perspectives*, Vol 1. Amsterdam: Elsevier. pp. 69-110.
- Grosvenor, C. E., Turner, C.W. (1958). Pituitary lactogenic hormone concentration and milk secretion in lactating rats. *Endocrinology.* 63:535.
- Grosvenor, C. E., Whitworth, N. (1974). Evidence for a steady rate of secretion of prolactin following suckling in the rat. *J. Dairy Sci.* 57: 900-904.
- Grosvenor, C. E., McCann, S.M., Naller, R. (1965). Inhibition of nursing -induced and stress-induced fall in pituitary prolactin concentration in lactating rats by injection of acid extracts of bovine hypothalamus. *Endocrinology.* 76: 883.
- Grosvenor, C. E., Hartmut, M., Mena, F. (1970). Effect of nonsuckling interval on ability of prolactin to stimulate milk secretion in rats. *Amer. J. Physiol.* 219: 403-408.
- Grosvenor, C. E., Whitworth, N., Mena, F. (1975). Milk secretory response of the conscious lactating rat following intravenous injections of rat prolactin. *J. Dairy Sci.* 58: 1803-1807.
- Grosvenor, C. E., Mena, F., Whitworth, N. S. (1979). The secretion rate of prolactin in the rat during suckling and its metabolic clearance rate after increasing intervals of nonsuckling. *Endocrinology.* 104: 372-376.
- Grosvenor, C.E., Goodman, G.T., Mena, F., (1984). Control of the multiphase secretion of prolactin in the lactating rat. In: Mena, F., Valverde, R.C.M. (Eds.) *Prolactin secretion: a multidisciplinary approach*. Orlando FL: Academic Press. 275-284.

- Grosvenor, C. E., Shyr, S.W., Goodman, G.T., Mena, F. (1986). Comparison of plasma profiles of oxytocin and prolactin following suckling in the rat. *Neuroendocrinology*. 43: 679-685.
- Grosvenor, C. E., Shah, G. V., Crowley, W. R. (1990). Role of neurogenic stimuli and milk prolactin in the regulation of prolactin secretion during lactation. In: Krasnegor, N.A. Bridges, R., (Eds.), *Mammalian Parenting: Biochemical, Neurobiological, and Behavioral Determinant*, Oxford University Press. New York. pp. 324-342.
- Gubernick, D. J. (1980). Maternal "imprinting" or maternal "labelling" in goats. *Anim. Behav.* 28: 124-129.
- Gubernick, D. J. (1981). Mechanisms of maternal "labelling" in goats. *Anim. Behav.* 29: 305-306.
- Gubernick, D. J., Corbeau Jones, K., Klopfer, P. H. (1979). Maternal imprinting in goats? *Anim. Behav.* 27: 314-315.
- Hafez, E. S. (1989). Comportamiento en la reproducción. Comportamiento materno y neonatal. En: *Reproducción e inseminación artificial en animales*. Interamericana-Mc Graw Hill Editores. México. D.F. 303-318.
- Hart, I. C. (1973). Effect of 2-bromo-a-ergocriptine on milk yield and the level of prolactin and growth hormone in the blood of the goat at milking. *J. Endocrinol.* 57: 179-180.
- Hart, I. C. (1974). The relationship between lactation and the release of prolactin and growth hormone in the goat. *J. Reprod. Fertil.* 39: 485-499.
- Hart, I. C. (1975a). Concentrations of prolactin in serial blood samples from goats before, during and after milking throughout lactation. *J. Endocrinol.* 64: 305-312.
- Hart, I. C. (1975b). Seasonal factors affecting the release of prolactin in goats in response to milking. *J. Endocrinol.* 64: 313-322.
- Hart, I. C., Flux, D.S. (1973). The release of growth hormone in response to milking. *J. Endocrinol.* 57: 177-178.
- Hart, I. C., Linzell, J.L. (1977). An analysis of specific stimuli causing the release of prolactin and growth hormone at milking in the goat. *J. Endocrinol.* 72: 163-171.
- Harvey, S., Daughaday, W.H. (1995). Chapter 12. Growth hormone release: profiles. In: Harvey S., S.C.G., Daughaday W.H. (Ed.), *Growth hormone*, CRC Press Boca Raton. pp. 193-223.
- Hernández, C.L.M. (1996). Evolución del vínculo madre-cría durante la lactancia y del amamantamiento en el mantenimiento de la conducta maternal a los 2.5 meses de lactancia en la oveja Columbia. pp 104. FESC-Cuautitlán, **Universidad Nacional Autónoma de México**.
- Hernández, H. (1996). La conducta maternal no afecta la duración del anestro postparto en las cabras Criollas de la Comarca Lagunera que paren en Mayo, pp. 81. *Univ. Aut. Agr. "Antonio Narro" Unidad Laguna, Torreón Coah., México*.
- Hernández, H., Ríos, J.A., Poindron, P., Duarte, G., Delgadillo, J.A., (1995). La conducta maternal no modifica la duración del anestro postparto de las cabras de la Comarca Lagunera que paren en primavera. In *"Memorias de la X Reunión Nacional Sobre Caprinocultura"*. U.A.Z. 17-20 octubre, 1995. pp. 4-6., Zacatecas, Zac., México.
- Hernández, H., Poindron, P., Delgadillo, J. A., Rodriguez, A. D., Kann, G., Marnet, P. G. (1999). Respuesta hormonal de PRL y GH a la succión en cabras, bajo diferente regimen de contacto madre-cría. In *"XLII Congreso de La Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas"*, pp. Resumen O 50, Zacatecas, México.

- Hernandez, H., Serafin, N., Vázquez, H., Delgadillo, J.A., Poindron, P. (2001). Maternal selectivity suppression through peripheral anosmia affects neither overall nursing frequency and duration, nor lactation performance in ewes. **Behav. Proc.** 53: 203-209.
- Herrenkohl, L. R., Rosenberg, P. A. (1972). Exteroceptive stimulation of maternal behavior in the naive rat. **Physiol. Behav.** 8: 595-598.
- Herscher, L., Richmond, J. B., Moore, A. U. (1963). Maternal behavior in sheep and goats. In: Rheingold, H.L., (Ed.), *Maternal Behavior in Mammals*, John Wiley and Sons Inc., New-York. pp. 203-232.
- Hess, C. E., Graves, H. B., Wilson, L. L. (1974). Individual preweaning suckling behavior of single, twin and triplet lambs. **J. Anim. Sci.** 38: 1313-1318.
- Higuchi, T., Honda, K., Fukuoka, T., Negoro, H., Wakabayashi, K. (1985). Release of oxytocin during suckling and parturition in the rat. **J. Endocrinol.** 105: 339-346.
- Hillbrick, G. C., Tucker, D.J., Smith, G.C. (1995). The lipid composition of cashmere goat fleece. **Aust. J. Agri. Res.** 46: 1259-1271.
- Hinch, G. N. (1989). The sucking behaviour of triplet, twin and single lambs at pasture. **Appl. Anim. Behav. Sci.** 22: 39-48.
- Holloway, W. R., Dollinger, M.J., Denenberg, V.H. (1980). Parturition in the rat: Description and assessment. In: Bell, R.W. Smotherman, W.P., (Eds.), *Maternal Influences and Early Behavior*, SP Med. Sci. Books, New York. pp. 1-26.
- Homeida, A. M., Cooke, R. G. (1984). Biological half-life of oxytocin in the goat. **Res Vet Sci.** 37: 364-365.
- Hoyos, G., Sáenz, P., Salinas, G. (1991). Desarrollo de modulos caprinos en la Region Lagunera. In: *Evaluacion de modulos caprinos en la Comarca Lagunera*, INIFAP-CIID, Matamoros Coah., México. pp. 1-11.
- Hudson, S. J., Mullord, M. M. (1977). Investigations on maternal bonding in dairy cattle. **Appl. Anim. Ethol.** 3: 271-276.
- Inenaga, K., Yamashita, H. (1986). Excitation of neurones in the rat paraventricular nucleus in vitro by vasopressin and oxytocin. **J. Physiol. (Lond).** 370: 165-180.
- Janovsky, M., Bilek, J. (1961). Signification de la pression intraciternale (barorécepteurs) dans la mamelle lors de l'éjection du lait (en tchèque). **Sborn. Csl. Akad. Zemed. Ved.** 34: 501-505.
- Jenkinson, D. M., Blackburn, P.S., Prodfoot, R. (1967). Seasonal changes in the skin glands of the goat. **Br. Vet. J.** 123: 541-549.
- Johke, T. (1970). Factors affecting plasma prolactin level in the cow and the goat as determined by radioimmunoassay. **Endocrinol. Jpn.** 17: 393-401.
- Johke, T., Hodate, K., (1978). Effects of CB154 on serum hormone level and lactogenesis in dairy cows. **Endocrinol. Jpn.** 25: 67-74.
- Juss, T. S., Wakerley, J. B. (1981). Mesencephalic areas controlling pulsatile oxytocin release in the suckled rat. **J. Endocrinol.** 91: 233-244.
- Kann, G. (1971). Dosage radioimmunologique de la prolactine plasmatique chez les ovins. **C. R. hebd. Sc. Acad. Sci.** 272: 2808-2811.
- Kann, G., Habert, R., Meusnier, C., Ryniewicz, H.S. (1977). Prolactin release in response to nursing or milking stimulus in the ewe. Is it mediated by thyrotrophin releasing hormone? **Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.** 17: 441-452.

- Kann, G., Carpentier, M. C., Fèvre, J., Martinet, J., Maubon, M., Meusnier, C., Paly, J., Verrière, N. (1978). Lactation and prolactin in sheep, role of prolactin in initiation of milk secretion. In: Robyn, C. Harter, M., (Eds.), *Progress in Prolactin Physiology and Pathology*, Elsevier-North Holland Biomedical Press, Amsterdam. pp. 201-212.
- Karg, H., Shams, D. (1974). Prolactin release in cattle. *J. Reprod. Fertil.* 39: 463-472.
- Kendrick, K. M., Keverne, E. B. (1991). Importance of progesterone and estrogen priming for the induction of maternal behavior by vaginocervical stimulation in sheep: effects of maternal experience. *Physiol. Behav.* 49: 745-750.
- Kendrick, K. M., Keverne, E. B., Baldwin, B. A., Sharman, D. F. (1986). Cerebrospinal fluid levels of acetylcholinesterase, monoamines and oxytocin during labour, parturition, vaginocervical stimulation, lamb separation and suckling in sheep. *Neuroendocrinology.* 44: 149-156.
- Kendrick, K. M., Keverne, E. B., Baldwin, B. A. (1987). Intracerebroventricular oxytocin stimulates maternal behaviour in the sheep. *Neuroendocrinology.* 46: 56-61.
- Kendrick, K. M., Keverne, E. B., Chapman, C., Baldwin, B. A. (1988a). Intracranial dialysis measurement of oxytocin, monoamine and uric acid release from the olfactory bulb and substantia nigra of sheep during parturition, suckling, separation from lambs and eating. *Brain Research.* 439: 1-10.
- Kendrick, K. M., Keverne, E. B., Shapman, C., Baldwin, B. A. (1988b). Microdialysis measurement of oxytocin, aspartate, gamma-aminobutyric acid and glutamate release from the olfactory bulb of the sheep during vaginocervical stimulation. *Brain Research.* 442: 171-174.
- Kendrick, K. M., Lévy, F., Keverne, E. B. (1991). Importance of vaginocervical stimulation for the formation of maternal bonding in primiparous and multiparous parturient ewes. *Physiol. Behav.* 50: 595-600.
- Kendrick, K. M., Lévy, F., Keverne, E. B. (1992a). Changes in the sensory processing of olfactory signals induced by birth in sleep. *Science.* 256: 833-836.
- Kendrick, K. M., da Costa, A. P., Hinton, M. R., Keverne, E. B. (1992b). A simple method for fostering lambs using anoestrous ewes with artificially induced lactation and maternal behaviour. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 34: 345-357.
- Kendrick, K. M., Keverne, E. B., Hinton, M. R., Goode, J. A. (1992c). Oxytocin, amino acid and monoamine release in the region of the medial preoptic area and bed nucleus of the stria terminalis of the sheep during parturition and suckling. *Brain Research.* 569: 199-209.
- Kendrick, K. M., Da Costa, A. P., Broad, K. D., Ohkura, S., Guevara, R., Lévy, F., Keverne, E. B. (1997). Neural control of maternal behaviour and olfactory recognition of offspring. *Brain Research. Bull.* 44: 383-395.
- Keverne, E. B., Lévy, F., Poindron, P., Lindsay, D. R. (1983). Vaginal stimulation: an important determinant of maternal bonding in sheep. *Science.* 219: 81-83.
- Klopfer, P. H., Gamble, J. (1966). Maternal imprinting in goats: the role of chemical senses. *Zeitschrift Fur Tierpsychologie.* 23: 588-592.
- Klopfer, P. H., Klopfer, M. S. (1968). Maternal "imprinting" in goats: fostering of alien young. *Zeitschrift Fur Tierpsychologie.* 25: 862-866.
- Klopfer, P. H., Adams, D. K., Klopfer, M. S. (1964). Maternal imprinting in goats. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 52: 911-914.

- Kolonie, J. M., Stern, J. M. (1995). Maternal aggression in rats: effects of olfactory bulbectomy, ZnSO₄-induced anosmia, and vomeronasal organ removal. **Horm. Behav.** 29: 492-518.
- Krehbiel, D., Poindron, P., Lévy, F., Prud'homme, M. J. (1987). Effects of peridural anesthesia on maternal behavior in primiparous and multiparous parturient ewes. **Physiol. Behav.** 40: 463-472.
- Kumaresan, P., Anderson, R.R., Turner, C.W., (1966). Effect of graded levels of lactogenic hormone upon mammary gland growth and lactation in rats. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.** 123: 581-584.
- Labussière, J. (1988). Review of physiological and anatomical factors influencing the milking ability of ewes and the organization of milking. **Livest. Prod. Sci.** 18: 253-274.
- Labussière, J. (1999). The physiology of milk ejection: consequences on milking techniques. In: Martinet, J., Houdebine, L.M., Head, H.H., (Eds.), *Biology of Lactation*, INRA Editions, Paris, France. pp. 307-343.
- Labussière, J., Durand, A. (1970). La pression intramammaire chez les bovins après une stimulation de la mamelle ou une injection intrajugulaire d'ocytocine. **Ann. Zootech.** 19:385-397.
- Labussière, J., Petrequin, P. (1969). Relations entre l'aptitude à la traite des brebis et la perte de production laitière constatée au moment du sevrage. **Ann. Zootech.** 18: 5-15.
- Labussière, J., Martinet, J., Denamur, R. (1969). The influence of the milk ejection reflex on the flow rate during the milking of ewes. **J. Dairy. Sci.** 36:191-201.
- Lacroix, M. C., Devinoy, E., Servely, J.L., Puissant, C., Kann, G. (1996). Expression of the growth hormone gene in ovine placenta: detection and cellular localization of the protein. **Endocrinology.** 137: 4886-4892.
- Lahulou-Kassi, A., Berger, Y.M., Bradford, G.E., Boukhliq, R., Tibary, A., Derqaoui, L., Boujenane, I. (1989). Performance of the D'Man and Sardi Sheep on accelerated lambing: I. Fertility, litter size, postpartum anoestrus and puberty. **Small Rum. Research.** 2: 225-239.
- Lamb, G. C., Miller, B.L., Lynch, J.M., Thompson, K.E., Held, J.S., Löest, C.A., Grieger, D.M., Stevenson, J.S. (1999). Twice daily suckling but not milking with calf presence prolongs postpartum anovulation. **J. Anim. Sci.** 77: 2207-2217.
- Lamming, G. E., Moseley, S.R., McNeilly, J.R. (1974). Prolactin release in sheep. **J. Reprod. Fertil.** 40: 151-168.
- Larson, B.L., Smith, V.R., (1974). Lactation. A comprehensive treatise. **Academic Press**, New-York, London. Vol I, II y III.
- Le Neindre, P. (1984). La relation mère-jeune chez les bovins. Influences de l'environnement social et de la race. Doctorat ès Sciences Naturelles. **Université de Rennes, Rennes, France.**
- Le Neindre, P., Garel, J. P. (1979). Adoption d'un deuxième veau par des vaches plusieurs jours après la mise-bas. **Ann. Zootech.** 28: 231-234.
- Le Neindre, P., Poindron, P., Delouis, C. (1979). Hormonal induction of maternal behavior in non-pregnant ewes. **Physiol. Behav.** 22: 731-734.
- Lent, P. C. (1974). Mother-infant relationship in ungulates. In: Geist, V., Walther, F., (Eds.), *The Behaviour of Ungulates and Its Relation to Management*, U.I.C.N., Morgues, Zwitzerland. pp. 14-55.
- Leonard, B. E., Tuite, M. (1981). Anatomical physiological, and behavioral aspects of olfactory bulbectomy in the rat. **Int. Rev. Neurobiol.** 22: 251-286.

- Lévy, F., Alexandre, G. (1985). Le comportement alimentaire du cabri créole élevé en stabulation libre de la naissance au sevrage. *Ann. Zootech.* 34: 181-192.
- Lévy, F., Poindron, P. (1984). Influence du liquide amniotique sur la manifestation du comportement maternel chez la brebis parturiente. *Biol. Behav.* 9: 271-278.
- Lévy, F., Poindron, P. (1987a). The importance of amniotic fluids for the establishment of maternal behaviour in experienced and inexperienced ewes. *Anim. Behav.* 35: 1188-1192.
- Lévy, F., Poindron, P. (1987b). Importance of amniotic fluids for the establishment of maternal behaviour in relation with maternal experience in sheep. *Anim. Behav.* 35: 1188-1192.
- Lévy, F., Kendrick, K. M., Keverne, E. B., Piketty, V., Poindron, P. (1992). Intracerebral oxytocin is important for the onset of maternal behavior in inexperienced ewes delivered under peridural anesthesia. *Behav. Neurosci.* 106: 427-432.
- Lévy, F., Locatelli, A., Piketty, V., Tillet, Y., Poindron, P. (1995). Involvement of the main but not the accessory olfactory system in maternal behavior of primiparous and multiparous ewes. *Physiol. Behav.* 57: 97-104.
- Lévy, F., Kendrick, K., Keverne, E. B., Porter, R. H., Romeyer, A. (1996). Physiological, sensory and experiential factors of parental care in sheep. *Adv. Study Behav.* 25: 385-473.
- Lickliter, R. E. (1982). Effects of a post-partum separation on maternal responsiveness in primiparous and multiparous domestic goats. *Appl. Anim. Ethol.* 8: 537-542.
- Lickliter, R. E. (1984a). Hiding behaviour in domestic goat kids. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 12: 245-251.
- Lickliter, R. E. (1984b). Mother-infant spatial relationships in domestic goats. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 13: 93-100.
- Lickliter, R. E. (1985). Behavior associated with parturition in the domestic goat. *Appl. Anim. Ethol.* 13: 335-345.
- Lincoln, D. W., Hill, A., Wakerley, J. B. (1973). The milk-ejection reflex of the rat: an intermittent function not abolished by surgical levels of anaesthesia. *J. Endocrinol.* 57: 459-476.
- Lindsay, D. R., Fletcher, I. C. (1968). Sensory involvement in the recognition of lambs by their dams. *Anim. Behav.* 16: 415-417.
- Linzell, J. L. (1955). Some observations on the contractile tissue of the mammary glands. *J. Physiol. (Lond).* 130: 257-267.
- Linzell, J. L., Peaker, M. (1971). The effects of oxytocin and milk removal on milk secretion in the goat. *J. Physiol.* 216: 717-734.
- Louault, F. (1983). Comment les relations mère-jeune influencent-elles la reprise post-partum de l'activité cyclique de reproduction chez la brebis Préalpes du Sud?, pp. 54. Diplôme d'Etudes Approfondies, **Ecole Nationale Supérieure Agronomique, Montpellier, France.**
- Lyons, W.R., (1958). Hormonal synergism in mammary growth. *Proc. Roy. Soc. Lond. (Biol).* 149: 495-499.
- Madon, R. J., Ensor, D. M., Knight, C. H., Flint, D. J. (1986). Effects of an antiserum to rat growth hormone on lactation in the rat. *J. Endocrinol.* 111: 117-123.
- Mandiki, S.N.M., Bister, J.L., Paquay, R. (1990). Effects of suckling mode on endocrine control of reproductive activity in Texel ewes lambing in july or november. *Theriogenology.* 33, 397-413.

- Marnet, P. G., Negrao, J. A. (2000). The effect of a mixed-management system on the release of oxytocin, prolactin, and cortisol in ewes during suckling and machine milking. **Reprod. Nutr. Develop.** 40: 271-281.
- Marnet, P. G., Volland, H., Pradelles, P., Grassi, J., Beaufils, M. (1994). Subpicogram determination of oxytocin by an enzyme immunoassay using acetylcholinesterase as label. **J. Immunoassay.** 15: 35-53.
- Martal, J. (1975). Effets de la traite sur le taux plasmatique de l'hormone somatotrope chez la brebis et chez la chèvre. **C. R. hebd. Sc. Acad. Sci (Paris).** 280: 197-200.
- Martinet, J., Denamur, R. (1960). Étude préliminaire des mécanismes de l'évacuation du lait de la glande mammaire chez la chèvre et la brebis. **Arch. Sci. Physiol.** 14: 35-96.
- Martin, R.D., (1966). Tree shrews: unique reproductive mechanism of systematic importance. **Science.** N.Y. 152: 1402-1404.
- Mauléon, P., Dauzier, L. (1965). Variations de durée de l'anoestrus de lactation chez les brebis de race Ile-de-France. **Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.** 5: 131-143.
- McDougall, P. (1975). The feral goats of Kielderhead Moor. **J. Zool.** 176: 215-246.
- McMahon, G. R., Shearman, R. P., Shutt, D. A., Smith, I. D. (1979). Prostaglandin F2 alpha-induced prolactin release and luteolysis in the goat. **Aust. J. Biol. Sci.** 32: 109-114.
- McNeilly, A. S. (1972). The blood levels of oxytocin during suckling and hand-milking in the goat with some observations on the pattern of hormone release. **J. Endocrinol.** 52: 177-188.
- McNeilly, A. S. (1994). Suckling and the control of gonadotropin secretion. In: Knobil, E. Neill, J.D., (Eds.), *The Physiology of Reproduction*, Second Edition, **Raven Press**, New York. pp. 1179-1212.
- McNeilly, A. S., Robinson, I. C., Houston, M. J., Howie, P. W. (1983). Release of oxytocin and prolactin in response to suckling. **Brit. Med. J.** 286: 257-259.
- McNeilly, J. R. (1972). Observations on the pattern of prolactin release during suckling in the ewe. **J. Reprod. Fertil.** 31: 487-488.
- Meites, J. (1957). Effects of growth hormone on lactation and body growth of parturient rats. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.** 96: 730-732.
- Mena, F., Beyer, C. (1968). Effect of spinal cord lesions on milk ejection in the rabbit. **Endocrinology.** 83: 615-617.
- Mena, F., Grosvenor, C. E. (1971). Release of prolactin by exteroceptive stimulation: sensory stimuli involved. **Horm. Behav.** 2: 107-116.
- Mena, F., Pacheco, P., Whitworth, N.S., Grosvenor, C.E. (1980). Recent data concerning the secretion and function of oxytocin and prolactin during lactation in the rat and rabbit. **Front. Horm. Res.** 6: 217-250.
- Mena, F., Clapp, C., Aguayo, D., Morales, M.T., Martínez de la Escalera, G. (1991). Stimulatory and inhibitory effects of suckling on lactation. **Endoc. Regul.** 25: 25-35.
- Mephram, T.B., (1987). *Physiology of lactation*. University of Nottingham. **Open University Press**.
- Mocqot, J.C., Guillimin, P. (1975). Effets de différentes fréquences de traite sur la production laitière des chèvres. **Rech. Ovine Caprine.** 11: 1253-1260.
- Modney, B. K., Yang, Q. Z., Hatton, G. I. (1990). Activation of excitatory amino acid inputs to supraoptic neurons. II. Increased dye-coupling in maternally behaving virgin rats. **Brain Research.** 513: 270-273.
- Moore, D., McCabe, G. (1989). *Introduction to the practice of statistics*. **Freeman, USA**.

- Moos, F., Freund-Mercier, M. J., Guerne, Y., Guerne, J. M., Stoeckel, M. E., Richard, P. (1984). Release of oxytocin and vasopressin by magnocellular nuclei in vitro: specific facilitatory effect of oxytocin on its own release. **J. Endocrinol.** 102: 63-72.
- Morgan, P. D., Arnold, G. W., Lindsay, D. R. (1972). A note on the mating behaviour of ewes with various senses impaired. **J. Reprod. Fertil.** 30: 151-152.
- Morgan, P. D., Boundy, C. A. P., Arnold, G. W., Lindsay, D. R. (1975). The roles played by the senses of the ewe in the location and recognition of lambs. **Appl. Anim. Ethol.** 1: 139-150.
- Munro, J. (1956). Observations on the suckling behaviour of young lambs. **Brit. J. Anim. Behav.** 4: 34-36.
- Nagy, G.M., Katalin, P.G., Horváth, M., Tóth, B.E., (1999). Prolactin secretion, regulation of. In: Knobil, E., Neill, J.D. (Eds.), *Encyclopedia of Reproduction*, Vol 4. **Academic Press**. pp. 60-66.
- Negrao, J. A. (1996). Réponse endocrinienne lors de l'adaptation à la traite mécanique chez la brebis laitière., pp. 142. **École Nationale Supérieure Agronomique de Rennes, Rennes. France.**
- Neill, J. D., Nagy, G. M. (1994). Prolactin secretion and its control. In: Knobil, E. Neill, J.D., (Eds.), *The Physiology of Reproduction*, Vol. 1, **Raven Press**, New York. pp. 1833-1860.
- Newberry, R.C., Woodgush, D.G. (1985). The suckling behavior of domestic pigs in a semi-natural environment. **Behavior.** 91: 11-25.
- Nicol, A. M., Sharafelding, M.A. (1975). Observations on the behaviour of single suckled calves from birth to 120 days. **Proc. N.Z. Soc. Anim. Prod.** 35: 221-230.
- Nicoll, C. S., Meites, J. (1959). Prolongation of lactation in the rat by litter replacement. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.** 101: 81-82.
- Nowak, R., Murphy, T. M., Lindsay, D. R., Alster, P., Andersson, R., Uvnäs-Moberg, K. (1997). Development of a preferential relationship with the mother by the newborn lamb: importance of the sucking activity. **Physiol. Behav.** 62: 681-688.
- NRC. (1981). Nutrient requirements of goats: Angora, Dairy, and Meat Goats in temperate and Tropical Countries. **National Academy Press**, Washington, DC.
- NRC. (1985). Nutrient requirements of sheep. **National Academy Press**, Washington, D.C.
- Numan, M. (1994). Maternal behavior. In: Knobil, E. Neill, J.D., (Eds.), *The Physiology of Reproduction*, Vol. 2, **Raven Press**, New York. pp. 221-302.
- O'Brien, P. H. (1984). Leavers and stayers: maternal post-partum strategies in feral goats. **Appl. Anim. Behav. Sci.** 12: 233-243.
- Odde, K. G., Kiracofe, G.H., Schalles, R.R. (1985). Suckling behavior in range beef calves. **J. Anim. Sci.** 61: 307-309.
- Peaker, M., (1977). Comparative aspects of lactation. **Academic Press**, London.
- Peaker, M., Wilde, C. (1996). Feedback control of milk secretion from milk. **J. Mamm. Gland. Biol. Neopl.** 1:307-315.
- Pedersen, C. A., Caldwell, J. D., Peterson, G., Walker, C. H., Mason, G. A. (1992). Oxytocin activation of maternal behavior in the rat. **Ann N.Y. Acad. Sci.** 652: 58-69.
- Peel, C. J., Bauman, D. E. (1987). Somatotropin and lactation. **J. Dairy Sci.** 70: 474-486.
- Peeters, G., De Buysscher, E., Vandevelde, M. (1973). Milk ejection in primiparous heifers in the presence of their calves. **Zentralbl Veterinarmed [A].** 20: 531-536.

- Perez, O., Jimenez de Perez, N., Poindron, P., Le Neindre, P., Ravault, J. P. (1985). Relations mere-jeune et reponse prolactinique a la stimulation mammaire chez la vache: influences de la traite et de l'allaitement libre ou entrave. **Reprod. Nutr. Develop.** 25: 605-618.
- Pérez, P. (1992). Efecto del amamantamiento y la presencia del macho en el reestablecimiento de la actividad reproductiva postparto en vacas *Bos taurus* x *Bos indicus* en un sistema de rejergeria. M.Sc. Thesis. **Colegio de Postgraduados**, Chapingo Mexico. pp.64.
- Peters, K. J., Horst, P. (1981). Development potential of goat breeding in the tropics and subtropics. **Anim. Res. Dev.** 14: 54-71.
- Pissonnier, D., Thiéry, J. C., Fabre-Nys, C., Poindron, P., Keverne, E. B. (1985). The importance of olfactory bulb noradrenalin for maternal recognition in sheep. **Physiol. Behav.** 35: 361-363.
- Poindron, P. (1974). Méthode de suppression réversible de l'odorat chez la Brebis et vérification de l'anosmie au moyen d'une épreuve comportementale. **Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.** 14: 411-415.
- Poindron, P. (1976a). Effets de la suppression de l'odorat, sans lésion des bulbes olfactifs, sur la sélectivité du comportement maternel de la Brebis. **C. R. Acad. Sci. Paris D.** 282: 489-491.
- Poindron, P. (1976b). Mother-young relationships in intact or anosmic ewes at the time of suckling. **Biol. Behav.** 2: 161-177.
- Poindron, P., Carrick, M. J. (1976). Hearing recognition of the lamb by its mother. **Anim. Behav.** 24: 600-602.
- Poindron, P., Le Neindre, P. (1975). Comparaison des relations mère-jeune observées lors de la tétée chez la brebis (*Ovis aries*) et chez la vache (*Bos Taurus*). **Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.** 15: 495-501.
- Poindron, P., Le Neindre, P. (1979). Les relations mère-jeune chez les ruminants domestiques et leur conséquence en production animale. **Bull. Tech. Dép. Génét. Anim.** 29-30: 33-57.
- Poindron, P., Le Neindre, P. (1980). Endocrine and sensory regulation of maternal behavior in the ewe. **Adv. Study Behav.** 11: 75-119.
- Poindron, P., Romeyer, A. (1992). Mother-young relationships in goats. In "**Memorias del IX congreso nacional caprino**", pp. 212-239, Monterrey, Nuevo Leon, México.
- Poindron, P., Martin, G. B., Hooley, R. D. (1979). Effects of lambing induction on the sensitive period for the establishment of maternal behaviour in sheep. **Physiol. Behav.** 23: 1081-1087.
- Poindron, P., Orgeur, P., Le Neindre, P., Kann, G., Raksanyi, I. (1980). Influence of the blood concentration of prolactin on the length of the sensitive period for establishing maternal behavior in sheep at parturition. **Horm. Behav.** 14: 173-177.
- Poindron, P., Lévy, F., Krehbiel, D. (1988). Genital, olfactory, and endocrine interactions in the development of maternal behaviour in the parturient ewe. **Psychoneuroendocrinology.** 13: 99-125.
- Poindron, P., Nowak, R., Lévy, F., Porter, R. H., Schaal, B. (1993). Development of exclusive mother-young bonding in sheep and goats. **Oxf. Rev. Reprod. Biol.** 15: 311-364.
- Poindron, P., Caba, M., Gomora Arrati, P., Romeyer, A. (1996a). Factores que controlan la conducta maternal en ovejas y sus implicaciones practicas. In "**Memorias del 8vo Congreso Nacional de Producción ovina**", **Rev. Latamer. Peq.** 1: 144-159. Rumin, Chapingo, Mexico.

- Poindron, P., Delgadillo, J. A., Flores, M. J., Hernández, H., Flores, J. A. (1996b). Suckling behaviour in criolla goats kidding in winter or spring in northern Mexico and its relation with postpartum anoestrous. *In* "VI International Conference on Goats", Vol. 2, pp. 818. **International Academic Publisher**, Beijing, China.
- Poindron, P., Hernandez, H., Gonzalez, F., Navarro, M. L., Delgadillo, J. A. (1998). Mother-young relationships in goats: mechanisms of control and possible implications for production. *In* "Proceedings of the 32nd Congress of the International Society for Applied Ethology" (Veissier, I. Boissy, A., Eds.), pp. 85. **INRA**, Clermont-Ferrand, France.
- Porter, R. H., Lévy, F., Poindron, P., Litterio, M., Schaal, B., Beyer, C. (1991). Individual olfactory signatures as major determinants of early maternal discrimination in sheep. *Dev. Psychobiol.* 24: 151-158.
- Poulain, D. A., Dyer, R. G. (1984). Reproducible increases in intramammary pressure after spinal cord stimulation in lactating rats. *Exp. Brain Res.* 55: 313-316.
- Reinhardt, V., Reinhardt, A. (1981). Natural sucking performance and age of weaning in zebu cattle (*Bos indicus*). *J. Agric. Sci. Camb.* 96: 309-312.
- Reinhardt, V., Shams, D. (1974). Analysis of teat stimulation as specific stimulus for prolactin in cattle. *Neuroendocrinology.* 14: 289-296.
- Restall, B. J. (1992). Seasonal variation in reproductive activity in Australian goats. *Anim. Reprod. Sci.* 27: 305-318.
- Restall, B., Walkden-Brown, S., Restall, H. (1991). Reproduction research in Australian goats. *In* "Proc Cashmere Research Seminar", pp. 49-59, Ballina.
- Ricordeau, G., Boccard, R., Denamur, R. (1960). Mesure de la production laitière des brebis pendant la période d'allaitement. *Ann. Zootech.* 9: 97-120.
- Richard, P. (1969). Contribution à l'étude des voies nerveuses du réflexe neuroendocrinien d'éjection du lait chez la brebis. *In* "CNRS", pp. 172, Paris.
- Robinson, I. C. A. F., Woolf, C.N., Parsons, J.A. (1981). Suckling in the guinea-pig: The simultaneous release of oxytocin and neurophysin. *J. Endocrinol.* 90: 227-236.
- Rodríguez, R.O.L., Segura, C.V.M. (1995). Effect of once-day suckling on postpartum reproduction in zebu-cross cows in tropics. *Anim. Reprod. Sci.* 40, 1-5.
- Romeyer, A. (1993). Développement et sélectivité du lien mère-jeune chez la chèvre et la brebis. *Rev. Ecol.* 48: 143-153.
- Romeyer, A., Poindron, P. (1992). Early maternal discrimination of alien kids by post-parturient goats. *Behav. Proc.* 26: 103-112.
- Romeyer, A., Porter, R. H., Lévy, F., Nowak, R., Orgeur, P., Poindron, P. (1993). Maternal labelling is not necessary for the establishment of discrimination between kids by recently parturient goats. *Anim. Behav.* 46: 705-712.
- Romeyer, A., Poindron, P., Orgeur, P. (1994a). Olfaction mediates the establishment of selective bonding in goats. *Physiol. Behav.* 56: 693-700.
- Romeyer, A., Poindron, P., Porter, R. H., Lévy, F., Orgeur, P. (1994b). Establishment of maternal bonding and its mediation by vaginocervical stimulation in goats. *Physiol. Behav.* 55: 395-400.
- Ronge, H., Blum, J.W., (1988). Somatomedin C and other hormones in dairy cows around parturition in newborn calves and in milk. *J. Anim. Physiol Anim. Nutr.* 60: 168-176.
- Rosenblatt, J. S., Siegel, H. I. (1981). Factors governing the onset and maintenance of maternal behavior among nonprimate Mammals. *In*: Gubernick, D.J. Klopfer, P.H., (Eds.), *Parental Care in Mammals*, Plenum Press, New-York. pp. 13-76.

- Rudge, M. R. (1970). Mother and kid behaviour in feral goats (*Capra hircus* L.). *Zeitschrift Fur Tierpsychologie*. 27: 687-692.
- SanJuan, L., Revillar, R., Olleta, J.L., Blasco, I. (1993). Efecto del manejo del ternero sobre la duracion del anoestro postparto y los indices productivos en vacas de carne. V Jornadas sobre produccion animal. *Inf. Tec. Econ. Agr.* Vol Extra. 12, 385-387.
- Sasada, H., Sugiyama, T., Yamashita, K., Masaki, J. (1983). Identification of specific odour components in mature male goat during the breeding season. *Jap. J. Zootech Sci.* 54: 401-408.
- Scott, I. C., Montgomery, G.W. (1987). Introduction of bulls induces return of cyclic ovarian function in post-partum beef cows. *New Zealand J. Agric. Res.* 30: 189-194.
- Serafin, N. (1996). Efecto de la supresión de la estimulación del amamantamiento sobre el vinculo madre-cría en ovejas columbia al final de la lactancia. In "Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia", pp. 54. *Universidad Autonoma de Tlaxcala*, Tlaxcala, Mexico.
- Shackleton, D. M., Shank, C.C. (1984). A review of the social behavior of feral and wild sheep and goats. *J. Anim. Sci.* 58: 500-509.
- Shillito-Walser, E. E. (1978). A comparison of the role of vision and hearing in ewes finding their own lamb. *Appl. Anim. Ethol.* 4: 71-79.
- Silveira, P. A., Williams, G.L. (1991). Effects of "own" versus "alien" suckling on luteinizing hormone secretion and interval to first ovulation in early postpartumanestrous beef cows. *J. Anim. Sci.* 69 Suppl. 10: 417 (Abstr.).
- Silveira, P. A., Spoon, R. A., Ryan, D. P., Williams, G. L. (1993). Evidence for maternal behavior as a requisite link in suckling-mediated anovulation in cows. *Biol. Reprod.* 49: 1338-1346.
- Smith, F. V., Van-Toller, C., Boyes, T. (1966). The "critical period" in the attachment of lambs and ewes. *Anim. Behav.* 14: 120-125.
- Smithson, K. G., Weiss, M.L., Hatton, G.I. (1989). Supraoptic nucleus afferents from the main olfactory bulb. I. Anatomical evidence from anterograde and retrograde tracers in rat. *Neuroscience*. 31: 277-287.
- Stabenfeldt, G. H. (1974). The role of progesterone in parturition: premature, normal, prolonged gestation. In: Bosc, M.J., Palmer, R.Sureau, C., (Eds.), *Avortement et Parturition Provoqués*, Masson et Cie, Paris. pp. 97-122.
- Stephens, D. B., Linzell, J. L. (1974). The development of sucking behaviour in the newborn goat. *Anim. Behav.* 22: 628-633.
- Stern, J. M. (1989). Maternal behavior: sensory, hormonal, and neural determinants. In: Brush, F.R. Levine, S., (Eds.), *Psychoendocrinology*. Vol. 3, *Academic Press*, New York. pp. 105-196.
- Stern, J. M., Siegel, H. I. (1978). Prolactin release in lactating, primiparous and multiparous thelectomized and maternal virgin rats exposed to pup stimuli. *Biol. Reprod.* 19: 177-182.
- Stern, J. M., Thomas, D. A., Rabii, J., Barfield, R. J. (1984). Do pup ultrasonic cries provoke prolactin secretion in lactating rats? *Horm. Behav.* 18: 86-94.
- Stevens, D., Alexander, G., Lynch, J. J. (1982). Lamb mortality due to inadequate care of twins by Merino ewes. *Appl. Anim. Ethol.* 8: 243-252.
- Stevenson, J. S., Knoppel, E.L., Minton, J.E., Salfen, B.E., Garverick, H.A. (1994). Estrus, ovulation, luteinizing hormone, and suckling-induced hormones in mastectomized cows with and without unrestricted presence of the calf. *J. Anim. Sci.* 72: 690-699.

- Terkel, J., Damassa, D. A., Sawyer, C. H. (1979). Ultrasonic cries from infant rats stimulate prolactin release in lactating mothers. **Horm. Behav.** 12: 95-102.
- Terqui, M. (1974). Les oestrogènes au cours de la gestation et de la parturition chez la truie et la brebis. In: Bosc, M.J., Palmer, R.Sureau, C., (Eds.), *Avortement et Parturition provoqués*, Masson et Cie., Paris. pp. 71-79.
- Terrazas, A., Ferreira, G., Lévy, F., Nowak, R., Serafin, N., Orgeur, P., Soto, R., Poindron, P. (1999). Do ewes recognize their lambs within the first day postpartum without the help of olfactory cues? **Behav. Proc.** 47: 19 - 29.
- Thatcher, W. W., Tucker, H. A. (1970). Lactational performance of rats injected with oxytocin, cortisol-21-acetate, prolactin and growth hormone during prolonged lactation. **Endocrinology.** 86: 237-240.
- Tindal, J. S., Knaggs, G. S., Turvey, A. (1967). The afferent path of the milk-ejection reflex in the brain of the guinea-pig. **J. Endocrinol.** 38: 337-349.
- Tindal, J. S., Knaggs, G. S., Turvey, A. (1969). The afferent path of the milk-ejection reflex in the brain of the rabbit. **J. Endocrinol.** 43: 663-671.
- Tucker, H. A. (1994). Lactation and its hormonal control. In: Knobil, E. Neill, J.D., (Eds.), *The Physiology of Reproduction*, Vol. 2, **Raven Press**, New York. pp. 1065-1098.
- Tucker, H. A., (2000). Neuroendocrine regulation of lactation and milk ejection. In: Coon P. M. and Freeman, M.E. (Eds.), *Neuroendocrinology in physiology and medicine.* **Humana Press** Totowa, N.J. pp 163-180.
- Valencia, J., Zarco, L., Ducoing, A., Murcia, C., Navarro, H. (1990). Breeding season of Criollo and Granadina goats under constant nutritional level in the Mexican highlands. In: "Livestock reproduction in Latin America". Vienna, Austria. **Int. Atom. Ene. Agency**, FAO: 321-333.
- Vázquez, R.R. (1996). Control de la motivación maternal al final de la lactancia en ovejas primíparas Rambouillet. pp 49. Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia. **Universidad Autónoma de Tlaxcala**, Tlaxcala, Mexico.
- Vega, J.R., Gibson, C.A., Skaar, T.C., Hadsell, D.L., Baumrucker, C.R., (1991). Insulin-like growth factor (IGF)-I and II and IGF binding proteins in serum and mammary secretions during the dry period and early lactation in dairy cows. **J. Anim. Sci.** 69: 2538-2547.
- Vermouth, N. T., Deis, R. P. (1972). Prolactin release induced by prostaglandin F₂ in pregnant rats. **Nat. New Biol.** 238: 248-250.
- Vicker, S. D., Larson, R.L., Kiracofe, G.H., Steward, R.E., Stevenson, J.S. (1993). Prolonged postpartum anovulation in mastectomized cows requires tactil stimulation by calf. **J. Anim. Sci.** 71: 999-1003.
- Vince, M. A. (1993). Newborn lambs and their dams: the interaction that leads to sucking. **Adv. Study Behav.** 22: 239-268.
- Wakerley, J.B. (1994). Milk ejection and its control. In: Knobil, E., Neill, J.D. (Eds), *The physiology of reproduction*, Vol 2. **Raven Press**. pp1131-1177.
- Wakerley, J.B. (1999). Milk ejection. In: Knobil, E., Neill, J.D. (Eds.), *Encyclopedia of Reproduction*, Vol 3. **Academic Press**. pp. 264-275.
- Walkden-Brown, S. W., Restall, B.J., (1996). Environmental and social factors affecting reproduction. In "**Proc. VI International Conference on Goats**", Vol 2, pp. 762-775, **Begin China**.

- Walkden-Brown, S. W., Restall, B.J., Henniawati. (1993a). The male effect in the Australian cashmere goat. 3. Enhancement with buck nutrition and use of oestrous females. **Anim. Reprod. Sci.** 32: 69-84.
- Walkden-Brown, S. W., Restall, B.J., Henniawati. (1993b). The male effect in Australian cashmere goats. 2. Role of olfactory cues from the male. **Anim. Reprod. Sci.** 32: 55-67.
- Wiesner, B. P., Sheard, N. M. (1933). *Maternal Behaviour in the Rat.* Oliver and Boyd, London.
- Wilde, C. J., Peaker, M., (1990). Autocrine control in milk secretion. Review. **J. Agric. Sci. Camb.** 114: 235-238.
- Wise, D. A., Pryor, T. L. (1977). Effects of ergocornine and prolactin on aggression in the post-partum golden hamster. **Horm. Behav.** 8: 30-39.
- Yavas, Y., Walton, J. S., (2000). Postpartum acyclicity in suckled beef cows: A review. **Theriogenology.** 54: 25-55.
- Yue, D. K., Smith, I. D., Turtle, J. R., Shearman, R. P. (1974). Effect of prostaglandin F2 alpha on the secretion of human prolactin. **Prostaglandins.** 8: 387-395.
- Zalesky, D. D., May, M.L., Garcia-Winder, M., Imakawa, K., Kittock, R.J., D'Occhio, M.J., Kinder, J.E. (1984). Influences of exposure to bulls on resumption of estrus cycles following parturition in beef cows. **J. Anim. Sci.** 59: 1135-1139.
- Zambrano, D., Deis, R. P. (1970). The adenohipophysis of female rats after hypothalamic oestradiol implants: an electron microscopic study. **J. Endocrinol.** 47: 101-110.
- Zarrow, M. X., Denenberg, V. H., Anderson, C. O. (1965). Rabbit: frequency of suckling in the pup. **Science.** 150: 1835-1836.
- Zarrow, M. X., Gandelman, R., Denenberg, V. H. (1971). Lack of nest-building and maternal behavior in the mouse following olfactory bulb removal. **Horm. Behav.** 2: 227-238.
- Zarrow, M. X., Schlein, P.A., Denenberg, V.H., Cohen, H.A. (1972). Sustained corticosterone release in lactating rats following olfactory stimulation from the pups. **Endocrinology.** 91: 191-196.

ANEXO



Short note

Maternal selectivity suppression through peripheral anosmia affects neither overall nursing frequency and duration, nor lactation performance in ewes

H. Hernandez ^a, N. Serafin ^a, H. Vazquez ^b, J.A. Delgadillo ^c, P. Poindron ^{a,*}

^a Centro de Neurobiología, UNAM, Campus UNAM Juriquilla, AP 1-1141, Queretaro, 76 001 QRO, Mexico

^b Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, Mexico

^c Departamento de Ciencias Médico-Veterinarias, Universidad Autónoma Agraria A. Narro, Unidad Laguna, Carretera a Santa Fe y Periférico, Torreón, 27000 COAH, Mexico

Received 17 October 2000; received in revised form 12 February 2001; accepted 14 February 2001

Abstract

The effects of parturition peripheral anosmia on nursing activity, milk production and growth of the lambs, were assessed by comparing intact ($n = 10$) and anosmic ($n = 10$) multiparous Columbia and Rambouillet ewes and their single lamb during the first 2 months of lactation. Intact mothers only nursed their own lamb (98%) while most of the nursing activity in anosmic mothers concerned alien lambs (78%). On the other hand, the total duration and the frequencies of nursing did not differ significantly between groups ($P > 0.05$). Nevertheless, the total percentage of nursing of own lamb by anosmic mothers (22%) was higher than expected at random (10%). Milk production or lambs' weights did not differ between groups. We conclude that parturition anosmia resulted in the failure of ewes to develop true selective nursing up to the 8th week of lactation, although some preferential mother-young relationship yet developed. On the other hand, it did not affect significantly overall nursing activity. © 2001 Elsevier Science B.V. All rights reserved.

Keywords: Anosmia; Maternal selectivity; Nursing behavior; Lactation; Sheep

1. Introduction

In contrast to most rodents and lagomorphs, mother sheep rapidly develop an exclusive bond with their litter and thereafter allow only their own young at nursing, while actively rejecting any alien young that attempt to suck (Beach and

* Corresponding author. Tel.: +52-42-381045; fax: +52-42-381046.

E-mail address: poindron@servidor.unam.mx (P. Poindron).

Jaynes, 1956; Holmes, 1990; Gonzalez-Mariscal and Rosenblatt, 1996; Lévy et al., 1996). It is well known that the establishment of this maternal selectivity depends on olfactory cues from the lamb, since maternal prepartum anosmia or pharmacological disruption of olfactory bulb function result in the failure of mothers to develop selective nursing (Bouissou, 1968; Baldwin and Shillito, 1974; Morgan et al., 1975; Poindron 1976a,b; Lévy et al., 1995; Kendrick et al., 1997). Until recently it was actually thought that no compensatory phenomenon could take over in case of olfactory deficit. Although visual and acoustic recognition also exists (Poindron and Carrick, 1976; Alexander and Shillito, 1977a,b), it was thought to take several days or weeks to develop (Morgan et al., 1975; Alexander and Shillito, 1977a; Shillito-Walser, 1978; Kendrick et al., 1996). Also, this non-olfactory recognition does not strongly influence selectivity at suckling (Morgan et al., 1975; Ferreira et al., 2000). Nevertheless, it was recently found that ewes are able to discriminate their own lamb from an alien one as early as 8 h postpartum without the help of olfactory cues in a situation not involving acceptance at the udder (Terrazas et al., 1999; Ferreira et al., 2000). In addition, it was found that at 1 month of lactation, anosmic ewes showed signs of discrimination at the udder, showing more rejection behaviours towards alien lambs (Ferreira et al., 2000), which suggests that the development of some compensatory process in the control of selective nursing is possible. However, the only information available about the effects of anosmia on spontaneous nursing during lactation concerns the 1st month postpartum (Poindron, 1976a,b), suggesting no development of selectivity at that stage, but rather a lower nursing frequency altogether. The present study was therefore carried out to investigate the possible presence of some discriminative nursing in anosmic ewes in the first 2 months postpartum, as well as possible effects of the lack of maternal olfaction on milk production and growth of the lambs, since it has been reported in cattle that maternal olfactory deficiency may affect milk production (Griffith and Williams, 1996), which in turn could influence nursing activity.

2. Animals, material and methods

2.1. Animals and management conditions

The subjects were five Columbia (three intact and two anosmic) and 15 Rambouillet multiparous ewes and their single lamb. Ten of these animals were intact (I group) and 10 had been made anosmic the previous year (A group) through intranasal irrigation of a 2.5% of Zinc Sulphate solution + 2% Xylocaine solution under general anaesthesia (Ferreira et al., 2000). All procedures were in accordance with guidelines A37801 of the French Ministry of Agriculture since anosmia had been performed in the frame of another collaborative work with french scientists (Ferreira et al., 2000). The olfactory deficiency was confirmed the week preceding birth, at 24 h postpartum and at the end of the study, using a behavioural food preference test (Poindron 1974). Also, their ability to accept an alien lamb at the udder was tested at 24 h postpartum (Poindron and Le Neindre, 1980). All A ewes were found to be anosmic before parturition (i.e. 1 year after treatment) and non-selective at 24 h postpartum, while all I ewes showed olfactory discrimination and selective nursing. In both groups, mothers and their lambs remained together during all the study. Each group of ewes was allocated in a separated 10 × 15 m pen provided with a shaded area. Animals were fed with lucerne hay, grain and minerals according to litter size and their physiological requirements (NRC, 1985), and had ad libitum access to water.

2.2. Observations and behaviours recorded

2.2.1. Nursing activity

As lambings were spread over a few days, the number of animals per group changed during the first days. Therefore, observations started when the groups were completed, i.e. when the first lambs born were 7 days old (± 1.0 day). All dams were focally observed during 2 consecutive hours, once a week, to record their nursing behaviour up to day 56 of lactation, considering the fact that in this species the nursing rate during the 2 first months of lactation varies from 1.8/h in the first

week to about once per hour on the 8th week (Fletcher, 1971; Gordon and Siegmann, 1991). Observations were carried out from 08:00 to 10:00 h. Time of nursing occurrence, identity of the animals involved, and duration of each nursing episode were described on portable tape recorder and later transcribed in the laboratory. A nursing episode was defined as the period during which a dam nursed a lamb without interruption for more than 5 s, regardless of the number of lambs that suckled (Delgadillo et al., 1997). Using this criterion, the following behavioural parameters were analysed:

- Number of nursing episodes with own lamb/dam/2 h.
- Number of nursing episodes with alien lambs/dam/2 h.
- Total number of nursing episodes/dam/2 h.
- Total duration of nursing episodes/dam/2 h.
- Mean duration of nursing episodes
- For each mother, frequencies of suckling by own and alien lambs for the total of the 2 months of study.

2.3. Physiological parameters

2.3.1. Milk production at the beginning, middle and end of the study (days 7, 29 and 56 of lactation):

In both groups, this variable was measured over a period of 24 h through the method of differential body weight of the lamb after and before suckling (Ricordeau et al., 1960), with additional hand milking to extract residual milk. Total milk production for the 24-h period was calculated summing up the quantities obtained during the measurements from 10:00, 12:00, 14:00, 16:00, 18:00 of 1 day and 08:00 h of the next morning.

2.3.2. Growth of the lambs:

Lambs were weighed after birth, and their weight was recorded weekly until 2 months of life, using a 10 g precision electronic scale.

For frequency events comparisons, non-parametric statistics were used, while for duration and weights comparisons, one factor ANOVA for repeated measures was performed (Systat 7.0; SPSS Chicago, USA).

3. Results

As changes over time were progressive or absent, actual figures will be given only for weeks 1, 4 and 8.

3.1. Frequency and duration of nursing episodes

The frequencies of nursing episodes/dam/2 h for the own lamb were significantly higher in intact ewes than in anosmic ones (Table 1). By contrast, for the alien lamb these frequencies were significantly lower in intact ewes (Table 1), while no effect of time was found for this variable in either group ($P \geq 0.35$). Table 1 also shows that the total number of nursing episodes/dam/2 h, summing frequencies for own and alien lambs, did not differ between groups ($P > 0.87$; Mann-Whitney). Results were similar for the total duration of nursing and mean duration of a nursing episode ($P > 0.225$; ANOVA). In addition, no differences were found between the mean duration of a nursing episode for the own lamb between F and A groups, or between mean duration of a nursing episode between the own and the alien lambs in the A group (Table 1).

3.2. Distribution of total number of nursing episodes between own and alien lambs

In total, 287 sucklings by lambs were observed in the I group and 267 in the A group. This did not differ from a random distribution between the two groups ($\chi^2 = 0.72$, 1 df, $P = 0.40$). In the I group, 278/287 sucklings were performed by the own lamb, vs 59/267 in the A group ($\chi^2 = 283$, $P < 0.001$). However, in the A group, when considering the null hypothesis of a random distribution of suckling between the 10 lambs of the group (i.e. 267/10 or approximately 27 suckling/lamb) the observed frequency for the own lamb was significantly higher than expected ($\chi^2 = 14.19$, 1 df, $P < 0.001$).

3.3. Milk production at day 7, 29 and 56 of lactation and growth of the lambs

The mean milk production during a 24-h period

in intact and anosmic mothers in both periods of lactation did not differ between groups. Thus, the milk production at day 7 postpartum in intact and anosmic ewes was the same in both groups (1.7 ± 0.3 kg). At 1 month, this production was of 1.6 ± 0.3 and 1.6 ± 0.4 kg, and at the end of the study 1.1 ± 0.1 and 1.2 ± 0.2 kg, respectively.

The weights of the lambs were not affected by anosmia (ANOVA; $P = 0.72$). Thus, the weights for the lambs in I and A groups were 7.7 ± 0.45 vs 7.4 ± 0.3 kg, 14.3 ± 0.6 vs 14.8 ± 0.5 kg and 22.7 ± 0.9 vs 22.4 ± 0.05 kg at 7, 28, and 56 days postpartum respectively (time effect, ANOVA, $P < 0.0001$)

Table 1
Frequency and duration of nursing episodes in intact (I) and anosmic (A) ewes during the first 8 weeks of lactation^{a,b}

Nursing parameter	Group	Week of lactation		
		1	4	8
Frequency of nursing episodes (own lamb) (median, IQR)	I	4, 3-7 **	3, 2-4 **	2, 1-3 **
	A	1, 0-2	0, 0-1	0, 0-1
Frequency of nursing episodes (alien lamb) (median, IQR)	I	0, 0-0 **	0, 0-0 **	0, 0-0 **
	A	3, 2-3	3, 1-4	2, 2-3
Frequency of nursing episodes (own + alien lamb) (medians, IQR)	I	4, 3-7 n.s.	3, 2-4 n.s.	2, 1-3 n.s.
	A	3, 1-6	4, 2-4	2, 2-4
Total duration of nursing time/dam/2 h (second; mean \pm sem)	I	122.2 \pm 25.3 n.s.	43.6 \pm 3.4 n.s.	33.1 \pm 6.2 n.s.
	A	132.5 \pm 41.2	53.7 \pm 11.8	42.0 \pm 5.9
Mean duration of each nursing/dam/2 h (second; mean \pm sem)	I	24.0 \pm 4.0 n.s.	18.6 \pm 3.5 n.s.	14.7 \pm 1.0 n.s.
	A	42.9 \pm 16.6	17.6 \pm 1.7	14.5 \pm 0.8
Total duration of nursing time/dam/2 h, 1 dams (second; mean \pm sem)	Own lamb	122.2 \pm 25.3 **	43.6 \pm 3.4 **	33.1 \pm 6.2 **
	Alien lambs	0	0	0
Mean duration of each nursing/dam/2 h, 1 dams (second; mean \pm sem)	Own lamb	24.0 \pm 4.0	18.6 \pm 3.5	14.7 \pm 1.0
	Alien lambs	-	-	-
Total duration of nursing time/dam/2 h, A dams (second; mean \pm sem)	Own lamb	45.5 \pm 21.5 **	24.0 \pm 2.4 **	12.7 \pm 1.7 **
	Alien lambs	127.0 \pm 33.7	55.0 \pm 10.4	38.1 \pm 5.2
Mean duration of each nursing/dam/2 h, A dams (second; mean \pm sem)	Own lamb	20.8 \pm 4.1	20.3 \pm 2.65	12.3 \pm 0.3
	Alien lambs	n.s. 46.0 \pm 18.3	n.s. 17.6 \pm 1.8	n.s. 14.8 \pm 1.1

^a I vs. A: ** Mann-Whitney ($P < 0.001$); n.s., non-significant ($P > 0.05$). No differences were found in the mean duration of each nursing episode for the own lamb between I and A groups.

^b Own lamb vs. alien lambs: ** Wilcoxon, $P < 0.001$; n.s., non significant.

4. Discussion

Our results clearly indicate that ZnSO₄ peripherally induced anosmia can last for at least a year. In addition, even 1 year after the loss of the sense of olfaction, mothers do not show clearcut selective nursing within the first 8 weeks of lactation, despite the fact that they are able to recognise their lamb through other sensory modalities (Ferreira et al., 2000). Indeed, while intact mothers nursed nearly exclusively their own young (98% of total time and 97% of nursing episodes), this was the opposite in anosmic dams (21 and 22%, respectively). Our results also indicate that the lower nursing activity towards the own lamb in anosmic mothers is not due to some general effect of anosmia on maternal behaviour, since overall nursing frequencies and nursing durations were very similar in the two groups. Also, some gross effect of anosmia on maternal physiology of lactation appears unlikely, since neither milk production nor lamb growth were affected by the treatment. In fact, the nursing parameters reported in the present study are similar to those of previous reports (Fletcher, 1971; Gordon and Siegmann, 1991). On the other hand, our results differ from those reported by Poindron (1976b), which suggested that anosmic mothers nurse less than intact dams. It must be pointed out, however, that in this latter study anosmia was induced by olfactory bulbectomy, a method that is known in rodents to induce behavioural perturbations not found with peripheral anosmia (Alberts, 1974; Fleming and Rosenblatt, 1974; Stern, 1989; Kohnie and Stern, 1995). This is also congruent with the facts that peripheral anosmia or pharmacological blockade of olfactory bulb functioning do not appear to have very clearcut adverse consequences on the initial manifestation of maternal behaviour at parturition in sheep, except for the lack of maternal selectivity (Lévy et al., 1995; Kendrick et al., 1997). Also, they differ from the recent results reported by Booth and Katz (2000), who reported failure of ZnSO₄ induced anosmia to impede maternal selectivity, while vomeronasal organ cauterization did so. The reasons for these discrepancies remain unclear, although differences between our results, those of Lévy et al. (1995) and this latter

work may be due to differences in anosmia methodology and anosmia testing.

At first sight, our results could also appear somewhat contradictory with the recent findings by Ferreira et al. (2000), who reported that at 1 month postpartum mothers tend to show some discriminatory ability in a controlled test of selective nursing. Nevertheless, it must be pointed out that while nursing of alien young was the rule and true selective maternal bond was absent in our study, some preferential relation existed between mothers and their own young. Also, it is possible that the oversimplified situation of the selectivity test made the discrimination task easier for the dams in Ferreira's study. Finally, whether this preferential relation was mainly due to the mother, to the lamb or both is not clear, for at least two reasons. First, anosmic mothers are perfectly able to learn to recognise their lambs using auditory and/or acoustic cues (Ferreira et al., 2000). Second, it is also known that even if lambs whose mothers are anosmic and non-selective have difficulties to recognise them on the first day of their life, they eventually do so within 1 month (Terrazas, 1999). As the present study was not designed to investigate mutual recognition in anosmic ewes and their lamb during lactation, it is difficult to conclude as to the respective roles of the mother and of the lamb in the maintenance of some preferential nursing of the own lamb. Nevertheless, there was no obvious indication that mothers were maintaining a closer spatial relationship with their own lamb that would have led to a higher nursing probability, especially given the small size of the observation paddock. Also, although this was not quantified, it seemed that most nursings were initiated by the lambs. Finally, no differences in the mean duration of nursing episodes were found between own and alien lambs in anosmic mothers. Taken together, and considering the above mentioned fact that lambs born from anosmic mothers do eventually develop recognition of their dam, it is likely that this preference is mainly due to the behaviour of the lamb. Further studies would be necessary to confirm this point.

We conclude that prepartum anosmia resulted in the failure of ewes to develop selective nursing

up to the 8th week of lactation. Nevertheless, the presence of mutual mother-young recognition allows the maintenance of some preferential relation between the lamb and its own mother. In addition, anosmia does not affect significantly parameters such as milk production or growth of the lambs. On the other hand, this does not exclude some effects at other levels. For example it would remain to investigate if the presence of a selective bond, or its suppression, may affect some aspects of maternal endocrinology, as reported in dairy and beef cattle (Perez et al., 1985; Silveira et al., 1993; Griffith and Williams, 1996; Lamb et al., 1999).

Acknowledgements

The authors wish to thank Raul Paulin Pineda for taking care of the animals, A.D Rodriguez, C. Frias and J.A Flores for their help in collecting the data. This study was supported by PAPIIT-UNAM grant IN212796. H. Hernandez was supported by CONACyT, CONCyTEQ and TELMEX during his doctoral studies.

References

- Alberts, J.R., 1974. Producing and interpreting experimental olfactory deficits. *Physiol. Behav.* 12, 657–670.
- Alexander, G., Shillito, E.E., 1977a. The importance of odour, appearance and voice in maternal recognition of the young in merino sheep (*Ovis aries*). *Appl. Anim. Ethol.* 3, 127–135.
- Alexander, G., Shillito, E.E., 1977b. Importance of visual cues from various body regions in maternal recognition of the young in Merino sheep (*Ovis aries*). *Appl. Anim. Ethol.* 3, 137–143.
- Baldwin, B.A., Shillito, E.E., 1974. The effects of ablation of the olfactory bulbs on parturition and maternal behaviour in Soay sheep. *Anim. Behav.* 22, 220–223.
- Beach, F.A., Jaynes, J., 1956. Studies on maternal retrieving in rats III. Sensory cues involved in the lactating female's response to her young. *Behaviour* 10, 104–125.
- Booth, K.K., Katz, L.S., 2000. Role of the vomeronasal organ in neonatal recognition in sheep. *Biol. Reprod.* 63, 953–958.
- Bouissou, M.F., 1968. Effet de l'ablation des bulbes olfactifs sur la reconnaissance du jeune par sa mère chez les ovins. *Rev. Comp. Anim.* 3, 77–83.
- Delgado, J.A., Poindron, P., Krehbiel, D., Duarte, G., Rosales, E., 1997. Nursing, suckling and postpartum anoestrus of creole goats kidding in January in subtropical Mexico. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 55, 91–101.
- Ferreira, G., Terrazas, A., Poindron, P., Nowak, R., Orgeur, P., Lévy, F., 2000. Learning of olfactory cues is not necessary for early lamb recognition by the mother. *Physiol. Behav.* 69, 405–412.
- Fleming, A.S., Rosenblatt, J.S., 1974. Olfactory regulation of maternal behavior in rats. II. Effects of peripherally induced anosmia and lesions of the lateral olfactory tract in pup-induced virgins. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 86, 233–246.
- Fletcher, I.C., 1971. Relations between frequency of suckling, lamb growth and post-partum oestrus behaviour in ewes. *Anim. Behav.* 19, 108–111.
- Gonzalez-Mariscal, G., Rosenblatt, J.S., 1996. Maternal behavior in rabbits: a historical and multidisciplinary perspective. *Adv. Stud. Behav.* 25, 333–360.
- Gordon, K., Siegmann, M., 1991. Suckling behavior of ewes in early lactation. *Physiol. Behav.* 50, 1079–1081.
- Griffith, M.K., Williams, G.L., 1996. Roles of maternal vision and olfaction in suckling-mediated inhibition of luteinizing hormone secretion, expression of maternal selectivity, and lactational performance of beef cows. *Biol. Reprod.* 54, 761–768.
- Holmes, W.G., 1990. Parent-offspring recognition in mammals: a proximate and ultimate perspective. In: Krasgenor, N.A., Bridges, R.S. (Eds.), *Mammalian Parenting*. Oxford University Press, New York, pp. 441–460.
- Kolonie, J.M., Stern, J.M., 1995. Maternal aggression in rats: effects of olfactory bulbectomy, ZnSO₄-induced anosmia, and vomeronasal organ removal. *Horm. Behav.* 29, 492–518.
- Kendrick, K., Atkins, K., Hinton, M.R., Heavens, P., Keverne, E.B., 1996. Are faces special for sheep? evidence from facial and object discrimination learning tests showing effects of inversion and social familiarity. *Behav. Processes* 38, 19–35.
- Kendrick, K.M., Guevara-Guzman, R., Zorrilla, J., Hinton, M.R., Broad, K.D., Münzack, M.y., Ohkura, S., 1997. Formation of olfactory memories mediated by nitric oxide. *Nature* 388, 670–674.
- Lamb, G.C., Miller, B.L., Lynch, J.M., Thompson, K.E., Held, J.S., Löest, C.A., Grieger, D.M., Stevenson, J.S., 1999. Twice daily suckling but not milking with calf presence prolongs postpartum anovulation. *J. Anim. Sci.* 77, 2207–2217.
- Lévy, F., Kendrick, K.M., Keverne, E.B., Porter, R.H., Romeyer, A., 1996. Physiological sensory and experimental factors of parental care in sheep. *Adv. Study Behav.* 25, 385–473.
- Lévy, F., Locatelli, A., Pikkety, V., Tillet, Y., Poindron, P., 1995. Involvement of the main but not the accessory olfactory system in maternal behavior of primiparous and multiparous ewes. *Physiol. Behav.* 57, 97–104.

- Morgan, P.D., Boundy, C.A.P., Arnold, G.W., Lindsay, D., 1975. The roles played by the senses of the ewes in the location and the recognition of lambs. *Appl. Anim. Ethol.* 1, 139-159.
- NRC., 1985. Nutrient requirements of sheep, sixth ed. National Academy Press, Washington, DC.
- Perez, O., Jimenez de Perez, N., Poindron, P., Le Neindre, P., Ravault, J.P., 1985. Relations mère-jeune et réponse prolactinique à la stimulation mammaire chez la vache: influences de la traite et de l'allaitement libre ou entravé. *Reprod. Nutr. Dévelop.* 25, 605-618.
- Poindron, P., 1974. Méthode de suppression réversible de l'odorat chez la brebis et vérification de l'anosmie au moyen d'une épreuve comportementale. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* 14, 411-415.
- Poindron, P., 1976a. Effets de la suppression de l'odorat, sans lésion des bulbes olfactifs, sur la sélectivité du comportement maternel de la Brebis. *C.R. Acad. Sci. Paris* 282, 489-491.
- Poindron, P., 1976b. Mother-young relationships in intact or anosmic ewes at the time of suckling. *Biol. Behav.* 2, 161-177.
- Poindron, P., Carrick, M.J., 1976. Hearing recognition of the lamb by its mother. *Anim. Behav.* 24, 600-602.
- Poindron, P., Le Neindre, P., 1980. Endocrine and sensory regulation of maternal behavior in the ewe. *Adv. Stud. Behav.* 11, 75-119.
- Ricordeau, G., Bocard, R., Denamur, R., 1960. Mesure de la production laitière des brebis pendant la période d'allaitement. *Ann. Zootech.* 9, 97-120.
- Shillito-Walser, E.E., 1978. A comparison of the role of vision and hearing in ewes finding their own lamb. *Appl. Anim. Ethol.* 4, 71-79.
- Silveira, P.A., Spoon, R.A., Ryan, D.P., Williams, G.L., 1993. Evidence for maternal behavior as a requisite link in suckling-mediated anovulation in cows. *Biol. Reprod.* 49, 1328-1337.
- Stern, J.M., 1989. Maternal behavior: sensory, hormonal, and neural determinants. In: Brush, F.R., Levine, S. (Eds.), *Psychoendocrinology*. Academic Press, pp. 105-226.
- Terrazas, A., 1999. Estudio de la comunicación acústica madre-cría en la oveja y su papel en el reconocimiento interindividual temprano. Unpublished PhD Thesis, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Terrazas, A., Ferreira, G., Lévy, F., Nowak, R., Serafin, N., Orgeur, P., Soto, R., Poindron, P., 1999. Do ewes recognize their lambs within the first day postpartum without the help of olfactory cues? *Behav. Process.* 47, 19-29.