

## **BIENESTAR EN TERNEROS LECHALES EN DOS SISTEMAS DE CRIANZA. ESTUDIO DE CASO EN LA CUENCA LECHERA SANTAFESINA**

**LEVA, P.E.<sup>1</sup>; GARCÍA, M.S.<sup>1</sup>; TOFFOLI, G.<sup>1</sup>;**

**RODRÍGUEZ, A. G.<sup>1</sup> & REY, F.<sup>2</sup>**

### **RESUMEN**

En el presente trabajo se llevo a cabo un estudio de caso con enfoque cuantitativo. El objetivo de este estudio fue evaluar el bienestar en terneros lechales durante la época invernal bajo dos diferentes sistemas de crianza, que se utilizan en la zona. Los terneros, se alojaron en dos sistemas: en estaca los machos y en jaula las hembras. Los animales recibieron dos tomas diarias de leche (4 l/día), balanceado iniciador y agua ad libitum. Se registraron pesos iniciales y finales. La ganancia de peso se analizó mediante técnicas estadísticas descriptivas. Se tomaron muestra de saliva para determinar cortisol (CS) en cuatro momentos del día. Los datos fueron analizados para detectar variaciones horarias. El CS no mostró fluctuaciones diarias. Durante quince días y día por medio, se registraron las conductas: parado, echado, comiendo y otras. La metodología de observación y registro utilizada fue el muestreo de barrido a intervalos regulares. Los datos de analizaron con la prueba del  $\chi^2$ . El efecto tratamiento fue significativo sobre el comportamiento ( $p < 0,01$ ). Los animales de los dos sistemas gastaron el 50% del tiempo en la conducta de reposo.

*Palabras clave: comportamiento, sistemas de crianza, cortisol en saliva.*

### **SUMMARY**

#### **Well-being of suckling calves under two different rearing systems. Case study in the central milk basin of Argentina.**

In this paper we conducted a case study with quantitative approach. The aim of this study was to assess welfare in suckling calves during the winter season under two different rearing systems, which are used in the area. Calves were housed in two systems: a stake in males and females cage. All animals received 4 L milk per day, in two servings. Water and a commercial starter were offered ad libitum. Initial and final weights were recorded, weight gain was analyzed using descriptive statistical techniques. Saliva samples were taken at four times over the day, to analyze saliva cortisol

---

1.- Cátedra de Agrometeorología, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Litoral. Kreder 2805. (3080) Esperanza, Santa Fe. Tel/fax: 03496-42-6400; e-mail: pleva@fca.unl.edu.ar

2.- Investigadora del CONICET. Docente de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral. Kreder 2805. (3080) Esperanza, Santa Fe.

Manuscrito recibido el 28 de noviembre de 2013 y aceptado para su publicación el 25 de marzo de 2014.

(SC). Data were analyzed for time variations. Neither daily fluctuations in SC concentrations nor system effects were detected in SC concentrations. Different behaviors: standing, lying, eating and “others” were observed every other day over a fortnight. Scan sampling at regular intervals was utilized. Data were analyzed by a c2 test. Systems effects were observed on behavioral conducts ( $p < 0.01$ ). Animals in both systems spent 50% of their time lying.

*Key words: behavior; rearing systems, saliva concentrations.*

## INTRODUCCION

El sector agropecuario está cambiando vertiginosamente, debido a las tendencias mundiales de globalización, internacionalización de mercados y acuerdos comerciales multinacionales. Uno de los temas emergentes en este escenario es el Bienestar Animal (BA). El bienestar de los animales depende de muchos factores, tales como la sanidad, el alojamiento y el manejo, las interacciones sociales entre animales y la posibilidad de llevar a cabo determinadas pautas de conducta. La conducta puede definirse simplemente como la respuesta de un organismo al ambiente (Carthy, 1969) y el BA está relacionado con el estado del organismo en su intento de adaptarse con ese ambiente (Fraser & Broom 1993)

El BA en animales recién nacidos es un problema particularmente durante los meses con condiciones ambientales extremas, en donde el ambiente meteorológico juega un papel importante en las primeras semanas de vida. En el caso de los terneros son muy sensibles a la hipotermia cuando los inviernos son fríos y húmedos (Assam *et al.*, 1993). Se registra un incremento del 50% de muertes en terneros debido a las bajas temperaturas combinadas con lluvia y viento (Berra *et al.*, 1996). Por lo tanto, mejorar el confort de los terneros debe ser

una prioridad en los sistemas lecheros, ya que esto podría contribuir a reducir el estrés debido al ambiente (Berra *et al.*, 1996). Las condiciones ambientales en los sistemas de crianza son bastante diferentes a la de un ternero en su vida natural junto a su madre. En los establecimientos comerciales los animales son separados de su madre después del nacimiento y son alimentados con leche o sustitutos que suministran cantidades limitadas de energía y proteína para estimular el desarrollo del rumen y lograr un destete precoz. Por lo tanto, cuando hace demasiado frío o demasiado calor, los animales deben usar energía para mantener su temperatura corporal interna. Esto ocurre a costa de la energía requerida para el crecimiento, por lo que puede tener un efecto negativo sobre el BA (Lagger, 2010).

El estrés tiene un importante rol en la salud de los terneros y es utilizado como un indicador de pobre BA. Los animales pueden sufrir estrés físico: hambre, sed, lesiones, fatiga, condiciones termales extremas, o estrés psicológico: restricción de los movimientos, prácticas de manejo, cambios imprevisto (Grandin, 1997). Otro aspecto a considerar, es la ritmicidad de la temperatura del cuerpo, de la respiración y de las hormonas que son procesos biológico importantes y marcadores convenientes y confiables del funcionamiento del reloj

biológico (Klerman *et al.*, 2002) así como también, indicadores de la salud general de un animal y de su metabolismo energético (Cossins & Bowler, 1987).

En la zona existen diferentes sistemas de manejo de los animales durante su etapa lechal. Las más usadas son dos: en jaula o en estaca. Normalmente las terneras son criadas en jaula, bajo el supuesto que es un sistema que mejora confort y por ende el BA. Los machos son alojados en el sistema de estaca, que se considera más precario en cuanto al confort y BA que el anterior. Ambos sistemas mantienen a los animales con movimientos restringidos, no permitiendo la expresión del patrón de comportamiento normal para la especie.

## HIPOTESIS

Para llevar a cabo esta investigación se formuló la siguiente hipótesis:

El BA es poco satisfactorio en los sistemas de crianza de terneros utilizados en la zona.

## METODOLOGIA

El presente trabajo de investigación presentó las características de un estudio de casos múltiples y se enmarcó bajo el enfoque cuantitativo

### Sitio de estudio y período

El estudio se llevó a cabo en un establecimiento lechero comercial en el departamento La Capital (-31 26' -61 8'), distante 28 km de la Facultad de Ciencias Agrarias de Esperanza durante la época fría y abarcó la etapa lechal hasta los 50 días. El estudio comenzó el 27 de junio y se extendió hasta el 16 de agosto del 2011. El período de estudio se dividió en observaciones preliminares de conducta desde el 27 de junio hasta el 1 de julio. Este período permitió definir las conductas y los horarios de observación.

### Animales y sistemas de manejo

Se emplearon 15 terneros nacidos entre el 10 y el 22 de junio (8 hembras y 7 machos) que se asignaron, de acuerdo al sexo

*Fig. 1: Terneros machos bajo el sistema de crianza en estaca*



Fig. 2: Terneros hembra bajo el sistema de crianza en jaula.



a dos sistemas: 1) sistema tradicional (ST), fueron destinados los terneros machos y 2) sistema jaula (SJ) las terneras hembras.

El sistema de crianza tradicional (ST), denominado en estaca (Figura 1), donde se alojaron los machos, consiste en una estaca con dos aros para colocar baldes destinados al alimento, la leche y el agua. Los terneros se sujetan a la estaca por medio de un collar y una cadena de 1,5 – 2 m de longitud.

El sistema jaula donde se alojaron las hembras, son estructuras de 2 metros de largo por 1 metro de ancho. Las mismas están cubiertas con chapa galvanizada en la mitad de los costados, en el fondo y la mitad del techo. Presentan 2 aros para colocar los baldes de alimento y agua protegidos por chapa. Están contruidos con hierro y enrejados con barras de 10 mm (Figura 2)

Los terneros recién nacidos permanecen 1 día con la madre y luego son alojados en jaula o estaca, según sexo, donde reciben el calostro durante 5 días.

#### Datos meteorológicos

La información meteorológica: temperatura del aire máxima (°C) y mínima (°C),

radiación solar (MJ/día), precipitación (mm), humedad relativa (%) y velocidad del viento (m/s), se obtuvo de la estación meteorológica inalámbrica automática Pegasus EP2000 (Argentina) de Facultad de Ciencias Agrarias.

Los datos obtenidos en la estación fueron utilizados para estimar la temperatura ambiente efectiva, es decir la sensación de frío que siente una animal a determinada temperatura ambiental. Según Khalifa (2003) definió a la temperatura ambiente efectiva de confort para el ganado como el estado constante de temperatura corporal, la cual puede ser mantenida sin necesidad de ajustes fisiológicos o de comportamiento. La temperatura efectiva del ambiente se evaluó con el Wind Chill Index (WCI), índice de enfriamiento por el viento, de acuerdo a la siguiente fórmula (NOAA, 2003):

$$WCI = 13,12 + 0,6215 * T_a - 11,37 * V^{0,16} + 0,3965 * T_a * V^{0,16}$$

donde:

$T_a$  es la temperatura media diaria del aire, en °C

V es la velocidad del viento, en km/h

### **Alimentación**

Los terneros recibían leche, 4 litros de leche en total, proveniente del establecimiento, suministrados en dos momentos por la mañana a las 9 hs y por la tarde a las 16 hs.

Luego de la leche matutina se reponía el alimento. Las hembras recibieron un alimento balanceado iniciador durante el primer mes de vida, a partir de esta fecha se les suministró maíz picado. En cambio los terneros machos desde la llegada a la crianza fueron alimentados con maíz picado. La cantidad ofrecida fue ad libitum.

### **Mediciones**

Se efectuaron las siguientes mediciones:

#### **Biológicas**

**Peso vivo.** A los animales se les registró el peso al ingreso (PI) y al final de los 50 días

de la etapa lechal (PF). Con esos datos se estimó la ganancia de peso diaria (GPD).

**Consumo de alimento.** Dos veces a la semana se controló el consumo individual de alimento. Se pesó el alimento al momento de suministrarlo. Al día siguiente se pesó el remanente y por diferencia se estimó lo ingerido por los terneros.

**Glucocorticoides en saliva.** Se realizaron dos tomas de muestra de saliva en los siguientes horarios: 08:00, 14:00, 20:00 y 02:00 horas

Las extracciones de saliva se realizaron con una esponja, previamente esterilizada, que se colocó en la boca del ternero durante no más de 1 minuto. Luego la esponja se introdujo en una jeringa y, presionando con el émbolo, se extrajo la saliva y se la conservó a -20°C, hasta el análisis.

La determinación del cortisol se realizó con el método ELISA en el laboratorio de la Facultad de Ciencias Veterinarias de Esperanza, UNL. El cortisol se cuantificó por un kit comercial ELISA (Salimetrics LLC, State College, PA, USA).

El ensayo se basa en la competencia entre el cortisol presente en las muestras de saliva y cortisol conjugado con la enzima peroxidasa, por los sitios de unión de anticuerpos monoclonales ligados a pocillos de una microplaca. Además, se prepara en el mismo ensayo, una curva de calibrado con concentraciones conocidas de estándares de cortisol, que permiten la posterior cuantificación de las muestras. Esta técnica de enzimo-inmunoensayo fue desarrollada por Chacón Pérez *et al.* (2004). Se utilizó un único kit para las dos tomas de muestras. El coeficiente de variación inter-ensayo es de 3,75% y el intra-ensayo 3,35%. La sensibilidad es < 0,03 ng/ml.

### **Comportamiento**

Las observaciones del comportamiento se realizaron utilizando la técnica de “muestreo de barrido” a intervalos regulares registrando la conducta de cada individuo en ese momento (Martin & Bateson, 1991). La regla de registro fue de muestreo temporal, realizando observaciones cada 15 minutos. Estas observaciones fueron apoyadas con grabaciones de video.

Las conductas se observaron día por día durante dos semanas consecutivas. Dado que los bovinos presentan hábitos diurnos (Valtorta *et al.*, 2006), las observaciones se realizaron durante las horas de luz.

Para determinar adecuadamente los horarios de observación, para que coincidan los momentos donde se presenta con la mayor frecuencia las conductas de interés para este estudio, se realizaron muestreos preli-

minares entre el 27 de junio y el 1 de julio. Esto permitió seleccionar los horarios de observación: 09:00 hs a 18:00hs con una interrupción desde las 12:00 hs a las 15:00hs.

### **Las conductas a observar fueron: Conductas de auto mantenimiento**

**Parado:** ternero apoyado en sus cuatro miembros extendidos, sin realizar ninguna actividad.

**Parado comiendo:** ternero apoyado en sus cuatro miembros con la cabeza dentro del comedero por más de 30 segundos.

**Parado bebiendo:** ternero apoyado en sus cuatro miembros con la cabeza dentro del bebedero por más de 30 segundos.

**Echado:** ternero decúbito ventral con ojos cerrados y la cabeza apoyada en el suelo o con torsión el cuello apoyando la cabeza sobre su espalda (Figura 3).

**Acostado:** ternero de decúbito ventral con la cabeza elevada y con los ojos abiertos. Los bovinos descienden primero la cabeza para observar cualquier movimiento de depredadores seguidamente apoyan una extremidad anterior flexionándola, después la otra y a continuación dirigen las extremidades posteriores hacia adelante flexionándolas progresivamente para dejarse caer suavemente sobre una manteniendo la otra extremidad hacia adelante (Fig. 4)

**Falsa Rumia:** ternero que mastica repetidas veces, ya sea acostado o parado

Las conductas sociales no fueron posibles de registrar ya que los terneros no tenían contacto unos con otros.

### **Análisis estadístico**

Para el análisis estadístico se utilizó el programa InfoStat profesional (Di Rienzo *et al.*, 2009).

**Peso vivo, consumo y cortisol en saliva.** Con los datos recolectados de peso

vivo, consumo y concentraciones de cortisol de cada grupo (ST y SJ), fueron analizados mediante técnicas de estadística descriptiva. Además se realizó un análisis de varianza de las concentraciones de cortisol en saliva para determinar homogeneidad del grupo. Luego, para determinar ritmicidad, se analizaron por medio del método del COSINOR propuesto por Halberg *et al.*, (1972) y descrito por Nelson *et al.* (1979). Este método consiste en ajustar a una serie temporal de N datos medidos,  $\gamma_i$  a una función coseno de forma tal que  $\gamma_i$  pueda ser expresado por:

$$\gamma_i = M + A \cos(\omega * t + \varphi)$$

donde:

$\gamma_i$  = Parámetro fisiológico (CS)

M = Mesor (valor alrededor del cual están las oscilaciones)

A = amplitud estimada por el cosinor de la función coseno

$\omega$  = frecuencia angular (radianes/ unidad de tiempo). El ciclo de 24 horas es representado por  $4\pi$  radianes)

$\varphi$  = acrofase estimada por el cosinor que corresponde al ángulo de fase del valor máximo de la función coseno.

t = tiempo, en horas

### **Comportamiento**

Para el análisis de los datos de comportamiento se confeccionaron tablas de contingencia entre los dos sistemas. Con las tablas de contingencia se procedió a efectuar una prueba de Chi-cuadrado ( $\chi^2$ ) según la metodología de Mader *et al.* (2007).

observó a las 20:00 horas, 1,73 ng/ml, y la menor a las 02:00 hs, 1,51 ng/ml. (Fig. 5).

La segunda extracción de saliva se realizó el 11/08, las condiciones

## RESULTADOS

### Datos meteorológicos:

En el Cuadro 1 se presentan los datos meteorológicos diarios de temperatura mínima ( $T_{mn}, ^\circ C$ ) temperatura máxima ( $T_M, ^\circ C$ ), temperatura media ( $T_{md}, ^\circ C$ ), precipitación ( $P_p, mm$ ), humedad relativa ( $HR\%$ ), radiación solar ( $RS, MJ/d$ ) y Wind Chill Index (WCI) correspondientes a los días en que se realizaron las mediciones.

### Mediciones biológicas

**Peso vivo.** En Cuadro 2 se presentan los PI y PF promedio de los terneros discriminados por tratamiento.

Se estimó la GPD y en el cuadro 3 se presentan los promedios alcanzados por cada grupo al finalizar el estudio. Si bien no se realizó un estudio comparativo se puede apreciar que no se presentaron diferencias entre los dos grupos.

**Consumo.** No se pudo realizar

*Fig. 3: Conducta observada: Echado.*



*Fig. 4: Conducta observada: Acostado.*



mediciones en relación al consumo, por error en el registro del remanente.

**Cortisol en saliva (CS)** Las condiciones meteorológicas en el día que se llevó a cabo la primera recolección de saliva (09/07) para la determinación de cortisol, se presentan en el Cuadro 1. Los

días previos a la extracción fueron muy fríos (Cuadro 1) con temperaturas mínimas por debajo de 0°C. Recordando que el rango de confort de los animales jóvenes es de 15°C a 27°C (Hahn, 1985), estos animales estuvieron fuera de su zona de confort en la mayor parte del día.

*Cuadro 1: Temperatura máxima (TMX), temperatura mínima (Tmn), humedad relativa (HR), radiación solar (RS), velocidad del viento (VV) y Wind Chill Index (WCI) registrados durante los días en que se realizaron las mediciones.*

Fecha	TM °C	Tmd °C	Tmn °C	Pp (mm)	HR (%)	RS Mj/día	VV km/h	WCI
04/07/2011	14,7	4,8	-2,8	0	68	9,3	17,4	2,8
06/07/2011	16,6	6,5	-0,6	0	73	8,1	15	5,7
08/07/2011	19,5	10,6	3,6	0	71	8,2	10,7	10,7
09/07/2011	19,1	12,2	5,9	16	74	6,5	11,1	11,8
11/07/2011	23,2	16,3	11,1	0	92	6,9	23,3	16,9
13/07/2011	20,4	16,6	10,6	0	70	sd	8,1	15,8
15/07/2011	21,2	6,4	15	7	85	0,8	13,1	18,6
11/08/2011	27,9	19,9	12,8	25,4	81	sd	14,3	21,4

*Cuadro 2: Pesos promedio iniciales (PI) y finales (PF) de los terneros bajo los dos sistemas de crianza: sistema tradicional (ST) y sistema modificado (SM). Los valores se presentan como media ± EE (error estándar).*

Sistema de crianza	PI (kg)	PF (kg)
ST	38,2 ±5,2	52,1 ±4,8
SJ	39,0 ±1,0	51,3 ±3,8

*Cuadro 3. Ganancia de peso diaria media (GPD, kg) de los terneros bajo los dos sistemas de crianza: sistema tradicional (ST) y sistema jaula (SJ). Los valores se presentan como media ± EE (error estándar).*

Sistema de crianza	GPD(kg)
ST	0,39 ±0,06
SJ	0,32 ±0,06



Los valores de cortisol variaron entre 1,92 y 3,50 ng/ml. El Cuadro 4 se presenta los valores medios para los dos sistemas en estudio.

No se observó una variación horario significativa ( $p=0,42$ ), por lo cual no fue necesario realizar la prueba de COSINOR

(Nelson *et al.*, 1979) para detectar ritmos circadianos. El mayor nivel de cortisol se encontró en el SJ a las 8:00 hs, 2,28 ng/ml, y el menor valor a las 20:00 horas, 1,66 ng/ml. En el ST la mayor concentración se observó a las 20:00 horas, 1,73 ng/ml, y la menor a las 02:00 hs, 1,51 ng/ml. (Figura 5).

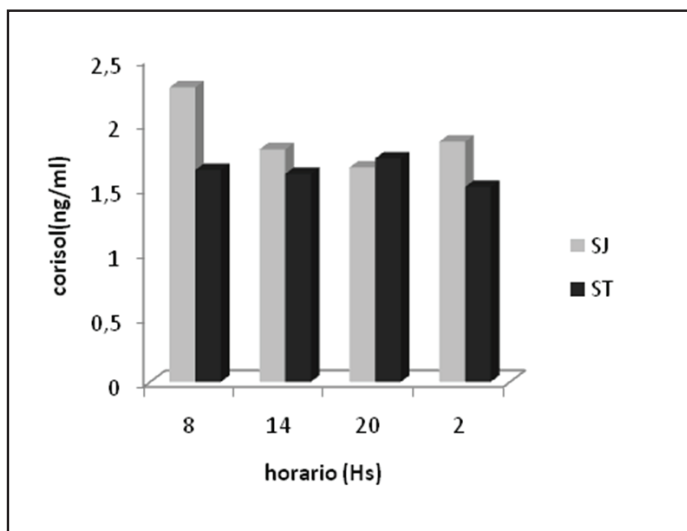
*Cuadro 4: Valores medio de cortisol (ng/ml), correspondientes a la primera extracción, de los terneros bajo los dos sistemas de crianza: sistema estaca (ST) y sistema jaula (SJ). Los valores se presentan como media ± EE (error estandar).*

Sistema de crianza	Media (ng/ml)
SJ	1,90±1,31
ST	1,62 <sup>a</sup> ±0,71

*Cuadro 5: Valores medio de cortisol (ng/ml), correspondientes a la segunda extracción, de los terneros bajo los dos sistemas de crianza: sistema estaca (ST) y sistema jaula(SJ). Los valores se presentan como media ± EE (error estandar)*

Sistema de crianza	Media (ng/ml)
SJ	0,24±0,02
ST	0,31±0,06

*Fig. 5: Marcha diaria de la variación de la concentración de cortisol en saliva (ng/ml) para terneros bajo los dos sistemas de crianza: sistema tradicional (ST) y sistema en jaula (SJ). Primera extracción de saliva.*



meteorológicas se presentan el Cuadro 1. En los días previos, la temperatura efectiva se mantuvo alrededor de los 12°C. El día que se efectuó las extracciones las condiciones meteorológicas se presentaron dentro del ZTN para los terneros. Los valores medios horarios de cortisol alcanzados se mantuvieron alrededor de 0,22ng/ml a 0,52ng/ml. En el Cuadro 5 se muestran los valores medios de cortisol por sistema

No se observó una variación horaria significativa ( $p=0,32$ ), por lo cual no se realizó la prueba de COSINOR (Neslon *et al.*, 1979) para determinar la presencia de ritmos circadianos.

En la Figura 6 se presenta la marcha diaria de las concentraciones de cortisol. Se puede apreciar que al igual que en la primera extracción los momentos de máxima y mínima no coinciden en los sistemas. El valor máximo se presenta a las 20:00 horas

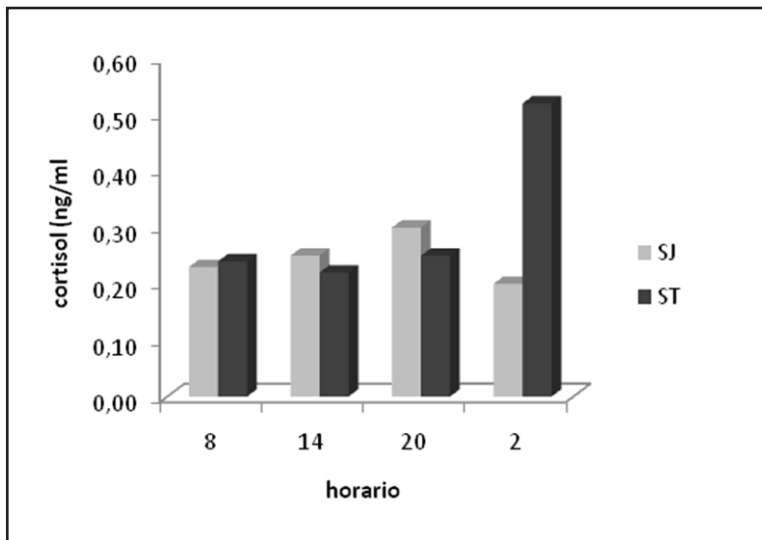
en el SJ y el menor a las 02:00 horas. En el caso de ST el máximo valor a las 02:00 horas y el menor a las 14:00 horas.

**Comportamiento.** Se observó una relación significativa ( $p< 0,0001$ ) entre las conductas registradas en los terneros y el sistema de crianza. En la Figura 7 se presenta la distribución porcentual del tiempo gastado para cada actividad. El porcentaje del tiempo destinado a estar echados (EH) fue 7% mayor en el SJ que en ST. En relación a la conducta acostado fue mayor 8% en el ST.

Por otro lado, los animales del ST permanecieron parados (P) más tiempo que sus compañeros del SJ (33% y 20%, respectivamente).

Los terneros del SJ gastaron el 22% del tiempo en la falsa rumia, mientras que los del ST solo destinaron el 13%.

*Fig. 6: Marcha diaria de la variación de la concentración de cortisol en saliva (ng/ml) para terneros bajo los dos sistemas de crianza: sistema tradicional (ST) y sistema en jaula (SJ). Segunda extracción de saliva.*



El tiempo destinado a comer el balanceado iniciador fue del 10% para el SJ y del 6 % para el ST.

## DISCUSIÓN

**Condiciones meteorológicas.** Las temperaturas medias mensuales registradas en los meses en que se llevó a cabo el ensayo (época fría) fueron  $10,8 \pm 4,3$  °C en julio y  $12,9 \pm 4,6$  °C en agosto, más bajas que el promedio normal de la región que es de 12,7 °C y 13,9 °C respectivamente (serie 1960-1990, SMN). El 78% de los días en que se realizó la crianza, la temperatura media fue inferior temperatura crítica inferior (TCI) de los terneros (NRC, 2001). Además, se presentaron 10 días con heladas meteorológicas. Este valor se ubica dentro de lo normal para la zona, que es de 11 días (García et al., 2008). La amplitud térmica diaria varió entre 3°C (12/07) y 21,2°C (07/07).

El efecto de la velocidad del viento se observa a través del WCI. Se puede apreciar en el Cuadro 3 que solamente tres días la temperatura efectiva fue inferior a la temperatura media del aire.

Considerando la zona de termoneutralidad ZTN para los terneros (NRC, 2001), en cuatro de los siete días de medición la temperatura del aire se encontró por debajo de la TCI (15°C, Hahn, 1985). En la segunda extracción de saliva el 11 de agosto, la temperatura del aire se presentó superior de la TCI.

En general, el invierno del 2011 fue con escasas precipitaciones, situación normal en la época invernal para la región.

### Datos biológicos

**Peso de los animales.** El peso de los terneros al nacimiento puede fluctuar entre

30 y 45 kg sin diferenciación de sexo (Lagger, 2010; Toledo, 1994). Los animales que participaron en el estudio presentaron un peso comprendido en el intervalo normal de referencia para la raza (Cuadro 2).

Los terneros en ambos sistemas lograron una GPD de 0,390 kg/d (ST) y 0,320 kg/d (SJ) por debajo de lo reportada para terneros criados artificialmente (Lagger, 2010). Sin embargo, en experiencias realizadas en un invierno anormalmente frío se reportaron GPD, en ST de 0,270 g/d (Leva *et al.*, 2009). Estos mismos autores encontraron que en inviernos muy suaves los animales criados en ST alcanzan una GPD de 0,400 kg/d. Los animales en el SJ la GPD fue entre 20-24% menos que lo informado por otros autores (Lagger, 2010; Leva *et al.*, 2009). Las GPD es un índice biológico importante, e indica cómo se van desarrollando los órganos, especialmente la ubre que crece mucho más rápido que otros órganos en el primer año de vida. Por lo tanto, esta etapa es la que va a determinar la producción de leche de la vaca.

Es posible que los terneros destinaran parte de su energía a mantener su temperatura corporal, en desmedro de su crecimiento (NRC, 1981). Los requerimientos energéticos se incrementan cuando el ternero se encuentra fuera de la ZTN. Por debajo de 5°C el ternero tiembla, tiritita para mantener la temperatura corporal, y este mecanismo requiere de energía. La energía que necesita para mantener su homeoterma puede ser obtenida a través del aumento de la ingesta o del incremento del metabolismo de los tejidos de reserva (Nonnecke *et al.*, 2009).

Por otro lado, en trabajos realizados comparando diferentes sistemas de crianza, también informan sobre una GPD superior en aquellos terneros a los que se les permiten mayor movilidad y sociabilidad con otros terneros (Chua *et al.*, 2002; Appleby

*et al.*, 2001). Los sistemas analizados en esta investigación, no permitían la sociabilización de los animales.

**Comportamiento.** La evaluación del comportamiento como un indicador de bienestar puede indicarnos cómo los animales hacen frente a su ambiente y a su condición fisiológica (Fraser, 1985). Los animales deprimidos demuestran una disminución de las características del repertorio del comportamiento del animal normal (Fraser, 1988).

Los terneros del SJ destinaron más tiempo al comportamiento parado que los del ST. En ambos sistemas los terneros gastaron en echados y acostados 44%. En experiencias realizadas durante la época invernal, comparando dos sistemas de crianza, en la zona (Leva *et al.*, 2011), informan que los terneros destinaron 58% a la conducta de descanso (echados+acostados). Estos autores no diferenciaron entre acostados y echados. Por otro lado, el menor porcentaje de la conducta de descanso se puede deber a que los animales pierden más calor por conducción cuando están en contacto directo con el suelo (Leadley *et al.*, 2006). Cabe aclarar, que en SJ a los animales se le proporcionó una cama de paja, pero las mismas no fueron removidas con frecuencia, transformándose en una fuente de contaminación e incomodidad para los animales.

En trabajos realizados por Chua *et al.* (2002), comparando diferentes sistemas de crianza de terneros, se observó que los animales alojados individualmente o en pequeños grupos destinaban más el 70% del tiempo a estar acostados. En sus experiencias se compararon el desempeño, la salud y el comportamiento de terneros alojados individualmente y en pares, alimentados con leche ad libitum,

suministrada en mamadera. Los terneros tanto del ST y como el de SJ mostraron menores porcentajes destinados a la conducta de descanso (Fig. 7).

Por otro lado, observaciones realizadas en vacas Holstein indicaron que gastaban el 51% del tiempo a estar acostadas (Vitela *et al.*, 2005). En este caso se analizaba el comportamiento de vacas en estabulación libre, con una disponibilidad de 40 m<sup>2</sup> de corral por animal. Los autores señalan que en condiciones ideales los bovinos adultos permanecen acostados hasta el 69% del tiempo debido, entre otras cosas, a que duermen y descansan en esa posición (Wechsler *et al.*, 2000). Finalmente, otros autores señalaron que las vacas de altas producción solo destinaban a estar acostadas el 34%, debido a que destinaban más tiempo a conductas alimenticias (Phillips, 1993).

El hecho de aislar un animal de sus congéneres es una importante fuente de estrés (Grandin, 1992; Gross & Siegel, 1981), pues los animales sociables obtienen su bienestar físico y fisiológico de uno al otro (Friend & Dellmeier, 1988; Van Putten, 1988). Las conductas lúdicas son propias de los animales jóvenes y ellas los preparan para su vida adulta (Jensen *et al.*, 1998; UCO, 2002; Tapki *et al.*, 2005). El comportamiento de juego es considerado como un indicador de bienestar (Duve *et al.*, 2012).

La temprana interacción social es importante para el desarrollo del comportamiento social del ternero (Jensen *et al.*, 1998; Duve *et al.*, 2012). Además, las actividades sociales pueden influir en la salud y en el desempeño de los terneros (Chua *et al.*, 2002). En esta experiencia los terneros no destinaron tiempo a comportamiento de juego, trotar, cocear y embestir. Esto no se puede realizar en ninguna de los sistemas,

dado que no permiten el contacto entre animales. Además, la poca movilidad, tanto el ST, donde están todo el tiempo atados, como el SJ, debido a sus dimensiones, no facilitan la realización de conductas de desplazamientos.

El tiempo destinado para la alimentación fue reducido en los dos sistemas de crianza. En ninguna situación superó el 10%. Esto coincide con lo observado en experiencias invernales realizadas en la zona (Leva *et al.*, 2011). Por otra parte esto no coincide con lo reportado por UCO (2002), quienes informan que los terneros dedican el 22% de su tiempo a comer. Probablemente estos resultados podrían estar afectados por el período de observación y también por el sistema de crianza, ya que en los resultados presentados por UCO (2002) los animales eran criados en grupos.

**Cortisol en saliva (CS).** La respuesta fisiológica ante una situación de estrés supone la activación del eje Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal, el cual en respuesta a un factor estresante como el dolor, trauma o discomfort térmico segrega la hormona corticotrofina (CRH) que actúa sobre la hipófisis y provoca la liberación de la adenocorticotrofina (ACTH), esto da lugar a la producción de glucocorticoides, principalmente el cortisol (Chacón Pérez *et al.*, 2004; Ekkel *et al.*, 1997; Cook *et al.*, 1996). Los glucocorticoides aumentan la glucosa disponible en el cuerpo ya sea destruyendo proteína, glicógeno o grasa, facilitando así la gluconeogénesis y suprimiendo la utilización de glucosa en la circulación periférica. Deprimen el sistema inmune, inhibiendo la síntesis de casi todas las citoquinas conocidas y alterando el crecimiento y la diferenciación de las células inmunes (Lagger *et al.*, 2004; Lay & Wilson, 2001).

La respuesta de los glucocorticoides al estrés es inmediata, las concentraciones de cortisol aumentan rápidamente hasta alcanzar, en minutos, valores varias veces superiores a los normales, siendo proporcionales a la gravedad del estrés (Ley *et al.*, 1996, Cunningham, 1999). Se ha visto que en la mayoría de los manejos de animales de granja se produce un aumento en las concentraciones sanguíneas de cortisol a medida que aumentan los niveles de estrés (Ley *et al.*, 1991, Ley *et al.*, 1996). Por ejemplo, en los casos de laminitis crónica en vacas, los niveles de cortisol fueron significativamente mayores comparados con vacas clínicamente sanas (Belge *et al.*, 2004).

Los corticoides entran a la saliva por difusión pasiva, por lo tanto su concentración no está afectada por la tasa de flujo salival (Riad-Fahmy *et al.*, 1982). La recolección de saliva es una técnica no invasiva y puede ser fácilmente ajustada a intervalos de tiempo regulares antes o después de una situación de estrés (Beerda *et al.*, 1996). Por otro lado, la extracción de muestras de sangre siempre produce estrés en los animales que puede provocar elevación de los niveles de cortisol (Cooper *et al.*, 1989; Fell *et al.*, 1985). En los últimos años, ha aumentado el interés en evaluar las concentraciones de CS.

Negrao *et al.* (2004) demostraron que las concentraciones de cortisol en plasma y saliva evaluadas después de una aplicación de hormona adrenocorticotropa (ACTH) presentan perfiles similares y encontraron una correlación positiva entre las concentraciones de CS y en plasma de terneros lecheros.

La concentración CS en bovinos adultos es menor a 4 ng/ml (Chacón Pérez *et al.*, 2004). En el caso de los terneros, trabajos realizados por Negrao *et al.* (2004)

detectaron niveles iniciales de cortisol inferiores a 0,2 ng/ml antes de la aplicación de ACTH.

En la experiencia realizada los terneros del SJ y ST, la CS de la primera extracción (Cuadro 4) presentaron niveles de cortisol muy superior a lo informado por Negro *et al.*, (2004). El día que se realizó la primera extracción se presentó con temperatura efectiva por debajo de la TCI (Hahn, 1985). En ensayos realizados en la cuenca lechera santafesina, (Leva *et al.*, 2010) durante la época invernal, informaron de CS en terneros entre 2,09 y 1,97 ng/ml, estos valores son semejantes a los alcanzados en este estudio. Estos valores nos permitirían inferir que los animales no se encontraban en condiciones de bienestar en ninguno de los dos sistemas.

En la segunda toma de muestra, con condiciones meteorológicas dentro de la ZTN los niveles medios de CS (Cuadro 5), fueron ligeramente menores que en la situación anterior. Además, las CS fueron ligeramente inferiores en el SJ que en el ST. Esto fue inverso a lo ocurrido en la primera extracción. Los niveles CS fueron aun menores que los reportados por Leva *et al.* (2012), en terneros, criados en la época estival, cuyas CS se presentaron entre 0,43 y 0,38 ng/ml.

La secreción de cortisol en ganado lechero exhibe un ritmo circadiano con valores máximos a las 6:00 y los mínimos a media noche (Cunningham 1999; Lefcourt *et al.*, 1993; Thun *et al.*, 1981). En estudios de evaluación de bienestar animal es más importante analizar el ritmo circadiano de concentración de cortisol, que un solo valor por día (Hillmann *et al.*, 2008; Ruis *et al.*, 1997). Bajo situaciones de estrés se ha observado un comportamiento caótico y arrítmico en humanos (Yehuda *et al.*, 1996). También en caballos se observó que los ritmos diarios de cortisol pueden

desaparecer por perturbaciones menores (Irvine & Alexander, 1994).

En esta experiencia, tanto los animales del ST como del SJ, no se detectaron ritmos circadianos de cortisol en ninguna de las dos extracciones realizadas. Estos resultados coinciden con los informados por Leva *et al.* (2012), en trabajos realizados durante la época invernal e estival. Investigaciones realizadas en animales jóvenes, demostraron que ciertas variables fisiológicas, como por ejemplo frecuencia cardíaca o respiratoria solo se ajustan a un ritmo circadiano después de los dos meses de vida (Piccione *et al.*, 2010). Parecía que el reloj biológico contralaba primeramente las oscilaciones de unas pocas variables, y luego el control de los patrones diarios de otras variables se da en un aparente orden jerárquico (Piccione *et al.*, 2010). Esto podría explicar la no detección de un ritmo circadiano de cortisol en los terneros, dada la edad de los animales.

## CONCLUSIONES

Lo analizado en este estudio de casos, si bien se necesitan aún más investigaciones en esta área, se puede concluir que, tanto en el sistema jaula como en el de estaca, los animales no se encuentran en condiciones de confort, menos aún de bienestar. Ambos sistemas adolecen de los mismos inconvenientes que es no permitir a los animales expresar su patrón normal de comportamiento, fundamentalmente lo referido a su conducta social. Además en ambos sistemas se presentaron bajas ganancias de peso diario.

**BIBLIOGRAFIA**

- APPLEBY, M.C.; D.M. WEARY & B. CHUA.** 2001. Performance and feeding behaviour of calves on ad libitum milk from artificial teats. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 74 (2): 191-201.
- AZZAM, S.M.; J. E. KINDER; M. K. NIELSEN; L.A. WERTH; K. E.GREGORY; L.V.CUNDIFFT & R.M. KOCH.**1993. Environmental effects on neonatal mortality of beef calves. *J Anim Sci* 71(2): 282-290.
- BEERDA, B; M.B.H. SCHILDER; N.S. JANSSEN & J.A. MOL.**1996. The use of saliva cortisol, urinary cortisol and catecholamine measurements for a non-invasive assessment stress responses in dogs. *Hormones and Behavior* 30pp. 272-279.
- BELGE, F.A.; A. BILDIK ; A.. BELGE; D. KILIÇALP & N. ATASOY .**2004. Possible association between chronic laminitis and some biochemical parameters in dairy cattle. *Aust Vet J* 82, 556-557.
- BERRA, G.; J.E. CARRILLO & L. ESTOL.**1996. *Enemigo* N° 1: El Frío. Infotambo. Pag. 60-64 – Año X :90
- CARTHY, J. D.** 1969. *Animal Behaviour*. Aidus Books Ltd. London castellano on line <http://www.terra.es/personal/jesusconde> Acceso: 25 de noviembre de 2007.
- CHACÓN PEREZ G; S. GARCÍA-BERENGUER LAITA; I. PORTAL & J. PALACIO LIESA.** 2004. Validación de una técnica de EIA para la determinación de para la determinación de cortisol en saliva de ganado bovino. *Spanish J. Agric. Res.* 2 (1), 45-51.
- CHUA, B.; E. COENEN; J. VAN DELEN & D.M. WEARY.** 2002. Effects of Pair Versus Individual Housing on the Behavior and Performance of Dairy Calves. *J. Dairy Sci.* 85:360-364.
- COOK, N. J.; A. L. SCHAEFER; P. LEPAGE & S. M. JONES .**1996. Salivary vs serum cortisol for the assessment of adrenal activity in swine. *Can. J. Anim. Sci.* 76:329-335.
- COOPER, T.R.; H. R. TRUNKFIELD; A .J. ZANELLA & W.D. BOOTH.** 1989. An enzyme-linked immunosorbent assay for cortisol in the saliva of man and domestic farm animals. *J Endocrinol.* 123:R13-R16.
- COSSINS, S.R. & K. BOWLER.** 1987. *Temperature Biology of animals*. London, Chapman & Hall.
- CUNNINGHAM , J.** 1999. *Sistema Endocrino*. En: Cunningham J (ed). *Fisiología Veterinaria*. Pp:409-429. Editorial Elsevier 3rd ed. Madrid, España. Currie
- DI RIENZO, J.A.; F. CASANOVES; M.G. BALZARINI; L. GONZALEZ; M. TABLADA & C.W.ROBLEDO** InfoStat, 2009. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- DUVE, L.R. ; D.M. WEARY; T.U. HALEKOH & M. B. JENSEN.** 2012. The effects of social contact and milk allowance on responses to handling, Play, and social behavior in young dairy calves *J. Dairy Sci.* 95 :6571-6581.
- EKKEL, E. D; B. SAVENIJE; W.G.P. SCHOUTEN; V.M. WIEGANT & M.J.M. TIELEN.** 1997. The effects of mixing on behavior and circadian parameters of salivary cortisol in pigs. *Physiol Behav* 62(1):181-184.
- FRASER, A.F & D.M. BROOM,** 1993. *Farm Animal Behaviour and Welfare* (3rd edit.). Bailliere Tindall: London. pp 35.
- FRASER, A.F.** 1985 *The behaviour of suffering in animals*. *Appl. Anim. Behav. Sci.*1984/85;13: 1-6.
- FRASER, A.F.** 1988. *Animal suffering: The appraisal and control of depression and distress in livestock*. *Appl.*

- Anim. Behav. Sci. 20: 127-133.
- FRIEND, T.H. & G.R. DELLMEIER.** 1988. Common practices and problems related to artificially rearing calves: An ethological analysis. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 20: 47-62.
- FELL, L.R.; D.A. SHUTT & C.J. BENTLEY.** 1985. Development of a salivary cortisol method for detecting changes in plasma "free" cortisol arising from acute stress in sheep. *Aust. Vet. J.* 12:403-406.
- GARCIA M.S.; P.E. LEVA & S.E. VALTORTA.** 2008. Caracterización del régimen agroclimático de heladas para la provincia de Santa Fe durante el período 1979-2004. *Rev. Facultad de Agronomía UBA*, 28(1):53-26.
- GRANDIN, T.** 1997. Assessment of Stress During Handling and Transport. *J. Anim. Sci.* 75:249-257
- GRANDIN, T.** 1992. Handling and transport of agricultural animals used in research. In: J. A. Mench, S.J. Mayer & L. Krulish., eds. *The well-being of agricultural animals in biomedical and agricultural research.* Proc SCAW (Scientists Center for Animal Welfare)- sponsored conference, Agricultural Animals in Research. Bethesda, MD: Scientist Center for Animal Welfare, 74-84
- GROSS, W.B. & P.B. SIEGEL.** 1981. Long-term exposure of chickens to three levels of social stress. *Avian Dis.* 25: 312.
- HAHN, G. L.** 1985. Management and housing of farm animals in hot environment ST. En: Yousef M (ed) *Stress physiology in livestock*, vol 2. CRC, Boca Raton, Florida, USA pp 151-174.
- HALBERG, F.; A. HOHNSON; W. NELSON; W. RUNGE & R. SOTHERN.** 1972. Autorhythmometry procedures for physiological self measurements and their analysis. *Physiol. Teacher* 1: 1-11
- HILLMANN E; L. SCHRADER; C. MAYER & L. GYGAX.** 2008. Effects of weight, temperature and behaviour on the circadian rhythm of salivary cortisol in growing pigs. *Animal* 2:3, pp 405-409 & The Animal Consortium.
- IRVINE, C.H.G. & S.L. ALEXANDER.** 1994. Factors affecting the circadian rhythm in plasma cortisol concentrations in the horse. *Domestic Anim. Endocrinol.* 11: 227-238
- JENSEN, M.B.; K.S. VESTERGAARD & C.C. KROHN.** 1998. Play behaviour in dairy calves kept indoors: the effect of social contact and space allowance. *Appl. Anim. Beh. Sci.* 56: 97-108.
- KHALIFA H.H.** 2003. Bioclimatology and adaptation of farm animals in a changing climate. In: *Interactions between climate and animal production.* Proc Symp, EAAP Technical series N° 7, Pp 15-29.
- KLERMAN, E.B.; H.B. GERSHENGORN; J. F. DUFFY & R.E. KRONAUER.** 2002. Comparison of the variability of three markers of the human circadian pacemaker. *J. Biol. Rhythms.* 17:181-193
- LAGGER, J.** 2010. Crecimiento Intensivo de Cría y Recría de Vaquillonas, aplicando los Principios de Bienestar. *Revista Veterinaria Argentina.* 27(265) 1-28.
- LAGGER, J.; E. SCHMIDT ; D. WARAN & R. OTROSKY.** 2004. Medición de cortisol en leche. *Vet Arg* 208, 577-586.
- LEADLEY S.** 2006. Calf blankets. <http://www.atticacows.com/documentView.aspdoc?ID=535>. Accessed 11 April 2008. como indicador de bienestar animal. Resultados preliminares.
- LAY, D. & M. WILSON.** 2001. Physiological indicators of stress in domestic livestock. *Symposium on Concentrated Animal Feeding Operations Regarding Animal Behavior, Care, and Well-Being*, Indiana, pp. 1-25.
- LEFCOURT, A.; J. BITMAN; J. KAHL & L. WOOD.** 1993. Circadian y ultradian rhythms of peripheral cortisol concentrations in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 76, 2607-2612.



- LEVA, P.E.; M.S.GARCIA; J.L. SOSA; G. D. TOFFOLI & S.E.VALTORTA.** 2012. Cortisol en saliva en terneros lechales en la cuenca lechera santafesina. Revista FAVE- Sección Ciencias Agrarias 11(1) 7-17. ISSN 1667-719
- LEVA, P.E.,M.S.GARCIA; J.L. SOSA; G.D. TOFFOLI & S.E. VALTORTA.** 2011 Comportamiento de terneros lechales en dos sistemas de crianza. Revista FAVE – Sección Ciencias Veterinarias 10 (1) 73-81, ISSN 1666-938X.
- LEVA, P.E.,M.S.GARCIA; J. L. SOSA; G. D. TOFFOLI & S.E.VALTORTA.** 2010. Well-being of suckling calves reared in two systems in the central milking area of argentina: physiological and behavioral indicators. Revista FAVE-Sección Agrarias 9(1-2) 7-18.
- LEVA, P.E. M.S. GARCÍA; J.L. SOSA; G.D. TOFFOLI; G. B. FERNÁNDEZ; S.E. VALTORTA.** 2009. Evaluación de índices fisiológicos en terneros lactantes durante dos inviernos en la cuenca lechera santafesina. Revista FAVE – Sección Ciencias Veterinarias 8 (2) 67-74, ISSN 1666-938X.
- LEY, S.; A. LIVINGSTON & E. WATERMAN.** 1991. Effects of chronic lameness on the concentrations of cortisol, prolactin and vasopressin in the plasma of sheep. Vet Rec 129, 45-47.
- LEY, S.J.; A. E.WATERMAN & A. LIVINGSTON.** 1996. Measurement of mechanical thresholds, plasma cortisol and catecholamines in control and lame cattle: a preliminary study. Res Vet Sci 2,172-173.
- MADER, T.L.; S.M. DAVIS & J.B. GAUGHAN.** 2007. Effect of sprinkling on feedlot microclimate and cattle behavior. Int. J. Biometeorol. 51(6) 541-551.
- MARTIN, P. & P. BATESON.** 1991. La medición del comportamiento. Alianza Universidad. Versión española de Fernando Colmenares, 1º edición. Ed. Alianza. Madrid - España. Pp:215.
- NEGRA, O. J.A.; M.A. PORCIONATO; A.M. PASSILLÉ & J. RUSHEN.** 2004. Cortisol in Saliva and Plasma of Cattle After ACTH Administration and Milking. J. Dairy Sci. 87:1713–1718
- NELSON, W; Y. LIANGTONG; JUNG-KUEN LEE & F.HALBERG.**1979. Methods for cosinor rhythmometry, Chronobiologia 6: 305-323.
- NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration).** 2003. Report on wind chill temperature and extreme heat index: evaluation and improvement project NOAA OFCM-R19, Washington DC, 75 pp.
- NONNECKE, J; M. R. FOOTE; B. L. MILLER; M. FOWLER; T. E. JOHNSON & R. L. HORST.** 2009. Ef-fects of chronic environmental cold on growth, health, and select metabolic and immunologic responses of preruminant calves J. Dairy Sci. 92:6134-6143.
- NRC (National Research Council).** 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. National Academy of Science Press, Washington, DC
- NRC (National Research Council).** 1981. Effect of Environment on Nutrient Requirements of Domestic Animals, National Academy press. Washington DC
- PHILLIPS, C.J.C.** 1993. Cattle behaviour Farming Press Books, Ipswich, UK pp 212.
- PICCIONE, G.; E. GIUDICE; F. FAZIO & J.P. MORTOLA.** 2010. The daily rhythm of body tem-perature, heart and respiratory rate in newborn dogs. J Comp Physiol B DOI 10.1007/s00360-010-0462-1
- RIAD-FAHMY D.; G.F. READ; R. F. WALKER & K GRIFFITHS .**1982. Steroids in saliva for assessing endocrine function. Endocrinol. Rev., 4:367–395.

- RUIS, M.A.W; J.H.A TE BRAKE; B. ENGEL; E.D. EKKEL; W.G.BUIST; H.J. BLOKHUIS & J.M. KOOLHAAS.** 1997. The Circadian Rhythm of Salivary Cortisol in Growing Pigs: Effects of Age, Gender, and Stress. *Physiology & Behavior* 62, 623-630.
- SERVICIO METEOROLOGICO NACIONAL CLIMATOLOGICA.** Mapas normales 1961-1990. <http://www.smn.gov.ar/?mod=clima&id=53> acceso 23/03/2009
- TAPKI, I; A. SAHIN & A.G. ONAL.** 2005. Effect of space allowance on behavior newborn milk-fed dairy calves. *Applied Animal Behaviour Science* 99 12-20
- THUN, R.; E. EGGENBERGER ; K. ZEROBIN; T. LUSCHER & W. VETTER.** 1981. Twenty-four-hour secretory pattern of cortisol in the bull: evidence of episodic secretion and circadian rhythm. *Endocrinology* 109, 2208-2212.
- TOLEDO, A.** 1994. Efecto de la adición de un probiótico (*Lactobacillus acidophilus*) sobre algunas parámetros productivos de terneros lactantes criados artificialmente. Tesis M.V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- UCO (Universidad de Córdoba, Producción Animal).** 2002. [http://www.uco.es/organiza/departamentos/prodanimal/economia/aula/img/pictorex/06\\_07\\_02\\_TEMA\\_8.pdf](http://www.uco.es/organiza/departamentos/prodanimal/economia/aula/img/pictorex/06_07_02_TEMA_8.pdf) Accessed 7 April 2008.
- VAN PUTTEN, G.** 1988. Farming beyond the ability for pigs to adapt. *Appl. Anim. Behav. Sci.*; 20:63-71.
- VITELA, I; C. CRUZ VÁZQUEZ & J. SOLANO.** 2005. Comportamiento de vacas Holstein mantenidas en un sistema de estabulación libre, en invierno, en zona árida, México. *Arch. Med. Vet.*, 37: 23-27.
- WECHSLER, B; J. SCHAUB ; K. FRIEDLI & R. HAUSER.** 2000. Behaviour and leg injuries in dairy cows kept in cubicles system with straw bedding or soft lying mats. *Appl Anim Behav Sci* 68: 189-197.
- YEHUDA, R.; TEICHER, M.H.; TRESTMAN, R.L.; LEVENGOOD, R.A. & SIEVER, L. J.** 1996. Cortisol regulation in posttraumatic stress disorder and major depression. A chronobiological analysis. *Biol. Psychiatry* 40: 79-88
- WECHSLER, B.; J. SCHAUB; K. FRIEDLI & R. HAUSER.** 2000. Behaviour and leg injuries in dairy cows kept in cubicles system with straw bedding or soft lying mats. *Appl Anim Behav Sci* 68: 189-197.
- YEHUDA, R.; TEICHER, M.H.; TRESTMAN, R.L.; LEVENGOOD, R.A. & SIEVER, L.J.** 1996. Cortisol regulation in posttraumatic stress disorder and major depression. A chronobiological analysis. *Biol. Psychiatry* 40: 79-88