



Bioindicadores de estrés y evolución de peso de terneros provenientes de destete precoz e hiperprecoz

Stress biomarkers & weight performance on early & very early weaning calves

María Eugenia Munilla^{1,*}; Juan Sebastián Vittone¹; Mercedes Odeón²; Juan Pablo Damian³;
Silvina Maidana⁴; Sonia Alejandra Romera⁴

- ¹ Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Concepción del Uruguay, Argentina.
² Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Bariloche, Argentina.
³ Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.
⁴ Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CNIA) Castelar, Argentina.

ORCID de los autores

M. E. Munilla: <https://orcid.org/0000-0002-8407-7659>

J. S. Vittone: <https://orcid.org/0000-0003-0559-1877>

M. Odeón: <https://orcid.org/0000-0003-0552-747X>

J. P. Damian: <https://orcid.org/0000-0001-8042-5743>

S. Maidana: <https://orcid.org/0000-0001-7449-9359>

S. A. Romera: <https://orcid.org/0000-0002-3966-9399>

RESUMEN

El destete precoz (60 a 70 días de vida) e hiperprecoz (30 a 40 días de vida) son implementados para mejorar la preñez de los rodeos de cría. Sin embargo, su aplicación puede afectar el bienestar de los terneros. El objetivo del presente trabajo fue identificar niveles de bioindicadores de estrés y la evolución de peso de terneros provenientes de destete precoz e hiperprecoz. El peso se midió a intervalos de 14 días. Se tomaron muestras de sangre por venipunción al día del destete (0) y al día 2 y 11. Se evaluaron glóbulos rojos, hematocrito, hemoglobina, valor corpuscular medio, hemoglobina corpuscular media, concentración de hemoglobina corpuscular media, glóbulos blancos, proteínas totales y albúmina. Los análisis estadísticos se realizaron mediante ANOVA (Test Tukey, $\alpha = 0,05$). Se comprobó que ningún ternero perdió peso luego del destete. Los destetados precozmente tuvieron mayor ganancia de peso durante el protocolo de destete y la recría posterior. Los bioindicadores de estrés retornaron a los valores basales al día 11. En este trabajo, el destete en edades tempranas no produjo estrés de largo plazo ni mermas productivas, lo cual es importante para los modelos de cría donde se aplica para mejorar la preñez de las vacas.

Palabras clave: bienestar animal; cría; eficiencia animal; lactancia; vacunos.

ABSTRACT

Early (60 – 70 days old) & very early weaning (30 – 40 days old) are used to improve pregnancy in beef cow-calf systems. However, its application can affect the calves' welfare. The aim of this work was to identify biomarkers levels & average weight gain in early & very early weaned calves. The animals were assigned to pens according to weaning age: very early weaned (40-d) & early weaned (66-d). The weaning practice consisted of the daily supply of extruded food (26% crude protein & 3 Mcal metabolizable energy). Live weight was registered at 14 days intervals. Blood samples were collected on the day of weaning (0) & on days 2 & 11 after. Red blood cells, hematocrit, hemoglobin, mean corpuscular value, mean corpuscular hemoglobin, mean corpuscular hemoglobin concentration, white blood cells, total proteins, & albumin were measured by complete blood count. Statistical analyzes were performed using the ANOVA ((Tukey Test, $\alpha = 0,05$). Any calf lost weight; also, average weight gain was higher in early weaned calves. Most of the biomarkers presented normal values after the weaning stage (day 11). In this work, weaning at early ages didn't affect animal welfare. These results are important in the beef cow-calf systems where are applied to improve the pregnancy rate.

Keywords: animal welfare; breeding; animal performance; lactation; cattle.

1. Introducción

El sector agropecuario de América Latina y el Caribe posee un gran potencial para contribuir a la producción de alimentos y la seguridad alimentaria mundial. Alrededor del 50% de la superficie de América Latina posee tierras con forraje nativo apto para pastoreo con características edáficas y medioambientales que definen distintos tipos de pastizales. En general, coinciden en que la vegetación sólo puede ser consumida por animales y que la tierra no es apta para agricultura extensiva continua ni puede sustentar bosques arborescentes (Murgueitio & Calle, 1998).

La cría bovina suele realizarse en pastizales limitados en calidad y/o disponibilidad. El apotreramiento y el ajuste de la carga animal (cabezas/ha) son prácticas de manejo ampliamente utilizadas para mejorar el aprovechamiento del forraje y la producción primaria y secundaria (Barbera et al., 2018). Otro manejo asociado al mejoramiento de la producción es incrementar los índices reproductivos a través del destete precoz o hiperprecoz, ya que la tasa de preñez es afectada por la permanencia de las crías y la baja condición corporal de las vacas (≤ 3 , escala de 1 a 9) (de Oliveira et al., 2018).

El destete precoz (DP, 60 a 70 días de edad) e hiperprecoz (DHP, 30 a 40 días de edad) contribuyen a la mejora de la preñez de las vacas (Galli et al., 2008). Mediante ambas modalidades de destete, se suprime la deriva de nutrientes a través de la secreción láctea. Se produce un incremento del metabolismo energético y nitrogenado que permite la recuperación de peso vivo (PV) (Coppo & Mussart 2006). La interrupción del vínculo materno-filial reactiva el ciclo estral de la vaca en menor tiempo (Orihuela & Galina 2019). También se reduce el intervalo parto – concepción e incrementa la tasa de preñez (Whittier, 1995).

En vacas de baja condición corporal, el destete precoz al inicio de un protocolo de inseminación a tiempo fijo contribuye a un tamaño mayor de folículo preovulatorio y una mayor tasa de ovulación. Ello permite una preñez del 77,8% por inseminación, mientras que vacas con cría al pie presentan tasas significativamente menores (Vittone et al., 2011).

La interrupción de la lactancia en edades tempranas permite ofrecer una dieta diferenciada a los terneros para prepararlos para la recría y engorde. Además, los terneros logran un peso

mayor al final de la recría respecto de terneros destetados de forma convencional, mejorando la rentabilidad de la producción ganadera (Ibarra et al., 2011).

El manejo de destete precoz e hiperprecoz consiste en separar definitivamente los terneros de las vacas y alojarlos en corrales con disponibilidad de agua y alimento. La ración se suministra desde el primer día con oferta creciente en la medida que los animales consuman la totalidad del alimento al término de un día. Luego de diez días, los terneros se encuentran adaptados a una alimentación sólida y pueden iniciar la etapa de recría con recursos alimenticios apropiados para su edad y peso (Galli et al., 2005).

La separación de la madre es considerada una condición estresante para los terneros. Se modifica un vínculo social (estrés psicológico/emocional) y además se modifica la alimentación. El estrés se puede definir como una respuesta biológica producida cuando un individuo percibe una amenaza a su equilibrio (Cannon, 1929). De acuerdo con la duración e intensidad, puede ser agudo o crónico y sus efectos son variables. La respuesta no es simple ni constante, sino que depende del estímulo y de las vivencias previas de los animales (Pargas-Alvarado et al., 2014).

El estrés generado por algunas prácticas ganaderas es un indicador de la pérdida de bienestar y su valorización contribuye a identificar y reducir efectos negativos sobre los animales (Romero Peñuela, Uribe-Velásquez, & Sánchez Valencia, 2011). El destete se caracteriza por una conjunción de múltiples factores estresantes para el ternero (Lynch et al., 2010). Cuando estos estresores son reconocidos por el sistema nervioso central, disparan una combinación de repuestas de defensas biológicas, presentando en consecuencia alteraciones en comportamiento y en los sistemas nervioso autónomo, neuroendocrino e inmunológico para retornar a la condición de homeostasis. Ese proceso tiene un costo energético, que altera el bienestar del animal y puede tener efectos negativos sobre la producción y la calidad de la carne (Pargas-Alvarado et al., 2014).

Cuando el estresor activa el sistema neuroendocrino, se produce la liberación de glucocorticoides. También haber cambios en algunas variables hematológicas y proteínas de fase aguda (O'Loughlin et al., 2014). Estas proteínas son reconocidas como indicadores fisiológicos del estrés, que también son sensibles

al sistema neuroendocrino inmunitario (Murata et al., 2009).

La valorización de la intensidad y duración del estrés puede medirse a través de indicadores bioquímicos. Los más utilizados son el cortisol, las catecolaminas, proteínas plasmáticas y la albúmina, que es la principal proteína de fase aguda liberada en situaciones de estrés. Los componentes de la sangre y sus características también son indicadores ampliamente utilizados. Ello se debe a que, frente a una situación estresante, se activa el sistema neuroendocrino, estimulando la liberación de catecolaminas y glucocorticoides, que, a su vez, activan la producción y liberación de proteínas de fase aguda (de Souza Teixeira et al., 2021) y el catabolismo de las proteínas libres (Romero Peñuela et al., 2011).

La síntesis de proteínas plasmáticas puede verse afectada por el efecto de condiciones ambientales, nutricionales, enfermedades agudas y crónicas y factores fisiológicos intrínsecos al animal. Es un indicativo de procesos patológicos y es una variable importante para diferenciar animales saludables de enfermos. Las proteínas de fase aguda son parte de la respuesta inmune innata y son moduladas para reestablecer la lesión tisular provocada por estrés o enfermedades. Un aumento de su concentración se encuentra asociado con deshidratación, infecciones, procesos inflamatorios crónicos y respuesta a estrés. Mientras que una disminución se relaciona con problemas nutricionales y una fase de respuesta inflamatoria aguda (Tothova, Nagy, & Kovac, 2016).

Por lo expuesto, es importante identificar las situaciones estresantes que pueden generarse en condiciones de intensificación y/o búsqueda de la eficiencia productiva. Una vez identificadas, se evalúa el nivel de estrés y se pueden tomar decisiones de manejo que mejoren la producción, asegurando el bienestar animal. El objetivo del presente trabajo fue evaluar niveles de estrés mediante la evolución de variables hematológicas y del peso de terneros destetados precoz o hiperprecozmente.

2. Material y métodos

2.1. Animales y diseño experimental

Se utilizaron 24 terneros Hereford provenientes del rodeo de la Estación Experimental Agropecuaria de Concepción del Uruguay (EEA INTA Entre Ríos, Argentina). Se apartaron de las vacas y se trasladaron a los corrales de destete. Se asignaron a dos tratamientos según la edad:

precoz (66 días de vida) o hiperprecoz (40 días de vida). Cada repetición (2 repeticiones, 6 animales cada una) consistió en corrales construidos con perímetro de 7 hilos de alambre fijo, comederos lineales (40 cm/ternero) y disponibilidad permanente de agua. Se aplicó el protocolo de alimentación para terneros de destete recomendado (Galli et al., 2005). Durante los primeros 10 días se suministró un alimento balanceado (26% proteína bruta y 3,0 Mcal de energía metabolizable (EM) por kg de materia seca (MS). En la base del comedero se colocó heno de alfalfa (16% PB y 1,8 Mcal EM/MS) a razón de 100 g/ternero DHP y 200 g/ternero DP. Finalizado el protocolo, los terneros iniciaron una recría con una dieta formulada con grano de maíz entero y concentrado proteico comercial (relación 75:25) a razón del 2% del peso vivo (PV) promedio de cada corral.

2.2. Medición de variables

Los terneros se pesaron a intervalos de 14 días para estimar el aumento diario de PV (ADPV). Se tomaron muestras de sangre entera de todos los terneros en ayunas por la mañana al día 0, 2 y 11. Se extrajeron por venipunción de la yugular (5 ml) y se colocaron en tubos de hemólisis con anticoagulante (EDTA). Las muestras se trasladaron refrigeradas al Instituto de Virología (CNIA INTA, Castelar, Argentina). Se tomó una alícuota de cada muestra y se introdujo en un contador hematológico (Nihon Kohden Celltac Alpha MEK-6450) para obtener el hemograma completo de cada muestra. El resto de la sangre entera se centrifugó a 4.000 rpm durante 10 minutos para la conservación del plasma en tubos eppendorfs a -20 °C para análisis de proteínas totales.

Las proteínas plasmáticas totales (g/dl) se determinaron con el método colorimétrico de Lowry (1951). Se construyó una curva de calibración a partir de la solución patrón (albúmina de suero bovino, 20 mg/ml) y la concentración de proteínas se determinó por interpolación de los valores de absorbancia de la curva patrón. Se aplicó una regresión lineal donde se representó la función exponencial de los valores de absorbancia obtenidos frente a la concentración de proteína, siendo proporcional a la intensidad de color. Se utilizó un espectrofotómetro (Beckman Coulter® DU530 Life science UV/Visible) con longitud de onda de 190 – 1100 nm.

2.3. Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se realizaron con el software InfoStat versión profesional 2019. Se

realizó el análisis de la varianza con un modelo de medidas repetidas en el tiempo. En todos los casos se compararon las medias con el test de Tukey ($\alpha = 0,05$).

3. Resultados y discusión

En la Tabla 1 se presentan los valores de edad, peso y ADPV de terneros de destete precoz e hiperprecoz. Los terneros destetados a los 40 y 66 días de vida presentaron similar ADPV durante la etapa de corral. La ganancia de peso durante la etapa de recría fue mayor respecto de la de corral para cada grupo de terneros. A su vez, los terneros destetados precozmente tuvieron mayor ganancia de peso respecto de los DHP ($p = 0,0256$).

Tabla 1

Evolución de peso de terneros provenientes de destete hiperprecoz y precoz

	Hiperprecoz	Precoz
Edad destete (días)	40,9 ± 7,4	66,2 ± 9,6
Peso inicial (kg)	57,0 ± 10,5	69,0 ± 9,1
Peso final (kg)	75,8 ± 16,3	91,2 ± 13,2
ADPV corral (kg/cab)	0,060 ± 0,024aA	0,027 ± 0,024aA
ADPV recría (kg/cab)	0,434 ± 0,155aB	0,531 ± 0,136bB

a, b: letras distintas entre columnas indican diferencia estadística entre ADPV DHP y ADPV DP (Tukey, $p < 0,05$). A, B: letras distintas entre filas indican diferencia estadística entre ADPV corral y ADPV recría (Tukey, $p < 0,05$).

En la Tabla 2 se presentan los valores de referencia (Sigua, 2019; Roland et al., 2014; Ticona, 2018) de distintas variables sanguíneas y los resultados obtenidos de terneros DHP y DP al día 0, 2 y 11 post destete.

Tabla 2

Bioindicadores de estrés de terneros provenientes de destete hiperprecoz y precoz

Bioindicador	Rango de referencia	Hiperprecoz			Precoz		
		0	2	11	0	2	11
Glóbulos rojos (n°/mm^3)	5000-10000	5442,7±990,4 b	6525,0±686,3 a	6616,7±1162,0 a	6718,3±693,3 a	6891,8±573,0 a	6943,3±939,6 a
Hematocrito (%)	28-38	33,5±5,1 b	35,1±3,8 ab	35,8±7,0 ab	40,5±4,7 a	37,0±2,7 ab	38,3±5,3 ab
Hemoglobina (%)	8-15	10,2±1,7 b	11,5±1,3 ab	12,0±2,3 a	12,4±1,3 a	11,8±0,9 a	12,7±1,7 a
VCM ¹ (fl)	40-60	62,3±5,0 a	53,8±1,9 b	54,0±3,1 b	60,2±1,3 a	53,8±2,8 b	55,1±2,0 b
HCM ² (%)	11-17	19,0±1,1 a	17,6±0,9 bc	18,1±1,1 ab	18,5±0,9 ab	17,2±1,0 c	18,3±0,8 ab
CHCM ³ (g/dl)	28-36	30,5±1,2 a	32,8±1,2 cd	33,5±0,7 d	30,7±1,2 ab	32,0±0,9 bc	33,3±0,7 d
Glóbulos blancos ($/mm^3$)	4000-13000	7981,8±1278,9 ab	6550,0±1595,7 ab	7816,7±2616,3 ab	6175,0±1209,9 a	6990,9±2362,4 ab	8933,3±2363,5 b
Proteínas totales (g/dl)	6,2-8,2	6,1±0,5 ab	6,7±0,6 b	7,5±0,6 c	6,1±0,2 a	6,7±0,3 b	7,8±0,3 c
Albumina (g/dl)	2,5-4,5	3,4±0,1 a	4,4±0,2 b	4,4±0,2 b	3,4±0,2 a	4,4±0,1 b	4,4±0,3 b

Los terneros de destete hiperprecoz presentaron valores menores de glóbulos rojos ($p = 0,0024$), hematocrito ($p = 0,0022$) y hemoglobina ($p = 0,0065$) en el día 0 respecto de los demás momentos de muestreo y de los terneros de destete precoz. El VCM fue similar entre tratamientos al día 0 y presentó una reducción significativa al día 2 y 11 ($p < 0,0001$) en ambos tipos de destete. HCM también presentó diferencias asociadas al día de muestreo ($p = 0,0001$), resultando mayor a los 2 días de destete. La CHCM presentó valores mayores al día 2 y 11 en ambos tipos de destete ($p < 0,0001$) respecto del momento de destete. Se observó una interacción entre el tipo de destete y el momento de muestreo sobre el recuento de glóbulos blancos ($p = 0,0378$). Los terneros de destete precoz presentaron valores mayores al día 11 respecto del día 0, no observándose diferencia con el día 2 ni con los terneros destetados a los 40 días de vida.

Se observó un efecto del tiempo de muestreo sobre el nivel de proteínas totales ($p < 0,0001$). En ambos tratamientos se observó un aumento significativo en el tiempo, todos los niveles se encontraron dentro de los valores de referencia.

Se encontró un efecto del tiempo sobre la albúmina ($p < 0,0001$). Los terneros de ambos grupos presentaron una concentración menor al día 0 respecto del día 2 y 11. Se observaron valores mayores a los de referencia del VCM y hematocrito al día 0 en ambos grupos y del HCM en todos los momentos de muestreo. Las demás variables se encontraron dentro de los valores de referencia reportados por otros autores.

El peso inicial de terneros DHP y DP coincide con los reportados por Galli et al. (2005). El ADPV durante la recría de los terneros de destete precoz coincide con Arias et al. (1998). El aumento de peso en la recría para cada tratamiento pudo relacionarse con su edad y capacidad de adaptación a la dieta sólida.

Los resultados indican que los terneros, independientemente de la edad, presentaron valores normales de las variables bioquímicas evaluadas luego del proceso de destete, incluida la etapa de corral. Los resultados coinciden con Souza Texeira et al. (2021) quienes reportaron valores dentro del rango de referencia en terneros destetados a los 30 y 75 días de vida.

Los resultados de los bioindicadores coinciden con Coppo & Mussart (2006), quienes reportaron que los terneros de destete precoz presentan una alarma simpática al estrés del destete. Es posible afirmar que los terneros presentaron alteración del eritograma. Los valores elevados en el recuento de glóbulos rojos, VCM y HCM son consistentes con un eritograma de deshidratación que se podría deber a la interrupción de la ingesta de leche (Ambros et al., 2006). El incremento del hematocrito está correlacionado positivamente con la intensidad de la deshidratación (Lee, Choi, & Kim 2020). El destete provocó una alteración leve y de corto plazo de la bioquímica sanguínea. Sin embargo, otros autores reportaron niveles de estrés de largo plazo luego del destete. Factores como transporte, edad y manejo de la alimentación durante la práctica también contribuyen a la reducción del estrés post destete. En términos de evolución de peso, Schoonmaker et al. (2004) reportaron mayor ganancia de peso en terneros destetados a los 119 días de edad respecto de los destetados a los 204 días. Munilla et al. (2020) reportaron resultados productivos similares e incluso mejores cuando destetaron precozmente a los terneros en relación con los del destete convencional. Smith (2015) demostró que el destete en edades más tempranas posee efectos positivos de largo plazo. El consumo residual y la calidad de la carne mejoran sustancialmente en novillitos engordados a corral. Por lo expuesto, además de la edad, es de suma importancia el manejo nutricional, sanitario y del ambiente en el que se alojan los terneros para reducir efectos negativos en su respuesta fisiológica al estrés y mejorar la eficiencia productiva. Es necesario continuar con investigaciones para valorizar el bienestar de los animales en sistemas intensivos de producción de carne.

4. Conclusiones

La aplicación del destete precoz e hiperprecoz generó un estrés fisiológico de corto plazo. Luego del período de corral para la adaptación a una dieta sólida, los terneros presentaron valores normales en todos los bioindicadores de estrés y una evolución de peso favorable, indicando una rápida recuperación. La interrupción definitiva de la lactancia en edades tempranas es una herramienta disponible para mejorar los índices de producción que no posee un efecto agudo intenso, ni crónico, sobre el bienestar de los terneros.

Referencias bibliográficas

- Ambros, L., L. Montoya, V. Kreil, G. Albarelllos, C. Rodríguez Fernández, M. Revuelto, & R. Hallu. (2006). Efectos de La Deshidratación y Rehidratación Sobre La Farmacocinética de La Norfloxacin En Terneros Effect of Dehydration & Rehydration on Norfloxacin Pharmacokinetics in Calves. *In Vet*, 8(1), 157–66.
- Arias, Adolfo A., A. Capellari, M. A. Revidatti, & A. Slobodzian. 1998. Diferencias en la ganancia de peso atribuibles al destete precoz en terneros cruza en el no de corrientes. *Rev. Arg. Prod. Anim*, 18(Sup 1), 240.
- Barbera, Pablo, Diego Bendersky, Mariana Calvi, Bibiana Cetrá, Jorgelina Flores, María Hug, Laura Perellano, Rafael Pizzio, G. Rosatti, D. Sampedro, & N. Sarmiento. (2018). *Cría Vacuna En El NEA*.
- Cannon, B. (1929). Organization for Physiological Homeostasis. *Physiological Reviews* IX(3), 399–431.
- Coppo, J., & N. Mussart. (2006). Evolución de Parámetros Hemáticos de Terneros Media Sangre Cebú En Crecimiento. *AGROTECNIA*, 16, 5–11.
- Galli, I., A. Monje, S. Vittone, D. Sampedro, & C. Busto. (2005). Destete precoz en cría vacuna. *Manual Ediciones INTA*, 2, 94.
- Galli, I., G. Teira, F. Perlo, P. Bonato, O. Tisocco, A. Monje, & S. Vittone. (2008). Animal Performance & Meat Quality in Cull Cows with Early Weaned Calves in Argentina. *Meat Science* 79(3), 521–28. doi: 10.1016/j.meatsci.2007.10.007.
- Ibarra, F., Cyrene Moreno, M. M., Salomón Moreno, F. D., & Campa Baldenegro, F. L. (2011). Early Weaning as a Tool to Increase Profitability in Ranches of Sonora, México. *Revista Mexicana de Agronegocios*, 28, 531-542.
- Lee, S. H., Eun, W. C., & Doo, K. (2020). Relationship between the Values of Blood Parameters & Physical Status in Korean Native Calves with Diarrhea. *Journal of Veterinary Science*, 12(2), 1–11. doi: 10.4142/JVS.2020.21.E17.
- Lynch, E. M., Bernadette Earley, M. McGee, & Sean, D. (2010). Characterisation of Physiological and Immunological Responses in Beef Cows to Abrupt Weaning & Subsequent Housing. *BMC Veterinary Research*, 6. doi: 10.1186/1746-6148-6-37.
- Lynch, Eilish, Mark McGee, & Bernadette Earley. (2019). Weaning Management of Beef Calves with Implications for Animal Health & Welfare. *Journal of Applied Animal Research*, 47(1), 167–75. doi: 10.1080/09712119.2019.1594825.
- Murata, K., Wakabayashi, Y., Kitago, M., Ohara, H., Watanabe, H., Tamogami, S., Warita, Y., Yamagishi, K., Ichikawa, M., Takeuchi, Y., Okamura, H., & Mori, Y. (2009). Modulation of Gonadotrophin-Releasing Hormone Pulse Generator Activity by the Pheromone in Small Ruminants. *Journal of Neuroendocrinology*, 21(4), 346–50.
- Murgueitio, E., & Calle, Z. (1998). Diversidad Biológica en sistemas de ganadería bovina en Colombia. *FAO* (Murgueitio, E. & Calle, Z. 1998. En: Conferencia electrónica de la FAO sobre agroforestería para la producción animal en Latinoamérica), 27–46.

- O'Loughlin, A., McGee, M., Doyle, S., & Earley, B. (2014). Biomarker responses to weaning stress in beef calves. *Research in Veterinary Science*, 97(2), 458–63. doi: 10.1016/j.rvsc.2014.06.003.
- de Oliveira, T. E., Jardim Barcellos, J., Odilene de Souza Teixeira, J., de Freitas, D., Pedroso Oaigen, R., Dhein Dill, M. & McManus, C. (2018). Risks Associated to Different Methods of Increasing Pregnancy Rate of Cows in Cow-Calf Systems. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 47. doi: 10.1590/rbz4720180051.
- Orihuela, A., & Galina, C. (2019). Reproductive Performance & Animal Welfare in Tropical Beef Cattle. *Animals*, 9(5), 223.
- Pargas-Alvarado, H., Mendoza, M., Márquez, Y., Bastidas, Z., Rivero, J., Colmenárez, D., & Puzzar, S. (2014). Valoración Del Estrés En Toros Brasileños y Venezolanos Mediante La Evaluación de Las Concentraciones de Cortisol y El Recuento Leucocitario. *Revista de La Facultad de Ciencias Veterinarias, UCV*, 55(2), 88–95.
- Roland, L., Drillich, M., & Iwersen, M. (2014). Hematology as a Diagnostic Tool in Bovine Medicine. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 26(5), 592–98. doi: 10.1177/1040638714546490.
- Romero Peñuela, M., L. Uribe-Velásquez, & J. Sánchez Valencia. (2011). Biomarcadores de estrés como indicadores de bienestar animal en ganado de carne. *Biosalud*, 10(1), 71–87.
- Schoonmaker, J. P., M. J. Cecava, F. L. Fluharty, H. N. Zerby, & S. C. Loerch. (2004). Effect of source and amount of energy and rate of growth in the growing phase on performance and carcass characteristics of early- and normal-weaned steers. *Journal of Animal Science*, 82(1), 273–82. doi: 10.2527/2004.821273x.
- Sigua, J. (2019). *Determinación de valores referenciales en hemograma y química sanguínea en bovinos Holstein machos aparentemente sanos en condiciones de altitud*. Tesis de Grado. Universidad Politécnica Salesiana.
- de Souza Teixeira, O., Kuczynski da Rocha, M., Mendes Paizano, A., Alforma, V., de Oliveira Feijó, J., Nunes Corrêa, M., Andrighetto Canozzi, M., McManus, C., & Jardim Barcellos, J. (2021). Behavioural & physiological responses of male & female beef cattle to weaning at 30, 75 or 180 days of age. *Applied Animal Behaviour Science*, 240. doi: 10.1016/j.applanim.2021.105339.
- Ticona, R. (2018). Determinación de valores de serie roja y serie blanca en bovinos (*Bos taurus*) de la raza Holstein adaptados a la altura, en la estación experimental Choquenaira. *Revista Estudiantil AGRO-VET*, 2(2), 192–98.
- Tothova, C., Nagy, O., & Kovac, G. (2016). Serum Proteins & their diagnostic utility in veterinary medicine: A review. *Veterinarni Medicina*, 61(9), 475–96. doi: 10.17221/19/2016-VETMED.
- Vittone, J. S., Otero, G., Aller, J., Scena, C., Alberio, R., & Cano, A. (2011). Destete precoz y desempeño reproductivo en vacas. *Arch. Zootec*, 60(232), 1065–76.
- Whittier, J. C. (1995). Time weaning and cow condition. Proceedings, The Range Beef Cow Symposium XIV December 5, 6 and 7, 1995, Gering, Nebraska.

